



UNIVERSITE DE LIMOGES

Faculté des Sciences et Techniques
École doctorale Sciences pour l'environnement ED n°523
Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles

Thèse N° 70-2010

THÈSE

Pour l'obtention du grade de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE LIMOGES
Mention "Chimie Appliquée"

Présentée par

Cyril RINGOT

Élaboration de nouveaux matériaux cellulosiques photobactéricides

Sous la direction de Pierre KRAUSZ et Vincent SOL

Soutenue publiquement le 02 décembre 2010 devant la commission d'examen

Rapporteurs :

M. Jean-Pierre MAHY, *Professeur*, Université Paris-Sud XI

M. Jean-Pierre SOUCHARD, *Professeur*, Université Paul Sabatier-Toulouse III

Examineurs :

M. Sophie MONGE-DARCOS, *Maître de Conférences-HDR*, Université Montpellier II

M. Vincent SOL, *Maître de Conférences-HDR*, Université de Limoges

M. Pierre KRAUSZ, *Professeur*, Université de Limoges

Invité :

M. Jacques CHRISTEN, *Professeur associé*, Directeur de l'AVRUL

Remerciements

Quatre années se sont écoulées depuis que j'ai franchi le premier pas dans le monde de la recherche. Ces années passées au Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles de l'Université de Limoges représentent à mes yeux une riche expérience professionnelle et humaine. Je tiens donc à remercier son directeur, Monsieur le Professeur Pierre Krausz pour m'avoir offert l'opportunité de développer un projet aussi bien innovant que passionnant. Je vous remercie de la confiance que vous m'avez accordée en me permettant de présenter mes travaux dans plusieurs congrès nationaux et internationaux.

Un travail de thèse est une perpétuelle remise en question. Pour avoir suivi au quotidien l'avancement des travaux, je tiens à remercier chaleureusement mon encadrant le Docteur Vincent Sol. Ta disponibilité, ta rigueur scientifique et tes remarques toujours pertinentes m'ont permis de faire évoluer les travaux et de repartir de l'avant dans les moments difficiles. Merci de m'avoir fait part de ta riche connaissance en chimie organique et plus particulièrement en chimie des porphyrines. L'accomplissement de ce travail le doit également en grande partie à nos longues discussions, professionnelles ou amicales. Vincent, trouve ici les marques de ma profonde reconnaissance et de mon plus grand respect. Je t'adresse également tout mon soutien pour la prise de tes nouvelles fonctions au sein du laboratoire.

Je suis très sensible de l'honneur que m'ont fait Messieurs les Professeurs Jean-Pierre Souchard et Jean-Pierre Mahy en acceptant d'être rapporteur de ces travaux de thèse. Veuillez trouver ici les marques de ma profonde reconnaissance.

Je remercie également, en ayant accepté de juger ce travail, Madame Sophie Monge-Darcos en qualité d'examinatrice et Monsieur Jacques Christen en tant que membre invité.

J'adresse mes profonds remerciements, à une "icône" du laboratoire, Monsieur Robert Granet sans qui ces années n'aurait pas eu la même saveur. De part votre encadrement en stage de Master recherche et votre soutien quotidien durant ces années, veuillez trouver le signe de ma reconnaissance. Votre culture scientifique et générale, intarissable, ont longuement animé les discussions de paillasses et de pause café, que nous avons pu avoir. Je n'en garderai que d'excellents souvenirs.

Je tiens à remercier le Professeur Michel Guilloton pour son esprit critique et pour tout le temps consacré à la correction de mes résumés de communications et de mes articles.

En étant à l'origine de ce projet, je remercie également Magalie Barrière et Delphine Aznar-Peyroux du travail accompli ensemble, sans oublier Matthieu Barrière qui en a fait partie intégrante.

Je remercie le Docteur Yves Champavier pour avoir effectué les analyses RMN et le Docteur Sandra Alvès pour les analyses en spectrométrie de masse de tous mes composés. J'adresse également mes remerciements aux membres du laboratoire SPCTS de Limoges pour leur aide dans la caractérisation des surfaces cellulosiques. Le Docteur Jean-René Duclère pour les analyses DRUV, Adila Azzou pour les analyses thermogravimétriques ainsi que Pierre Carles pour la microscopie électronique à balayage. Qu'ils trouvent également l'expression de toute ma reconnaissance pour avoir contribué à l'aboutissement de ce travail.

Je n'oublie pas de remercier le docteur Céline Frochot et le futur docteur Pierre Couleaud du laboratoire DCRP de Nancy, pour avoir réalisé les mesures de rendement quantique en oxygène singulet des photosensibilisateurs finaux.

J'adresse également mes profonds remerciements au Professeur Philippe BRESSOLIER ainsi qu'au Docteur Naïma Saad pour leur grande disponibilité, leur rigueur scientifique et leurs connaissances de la microbiologie. Je vous remercie d'avoir été là pour la mise en place et le développement d'un nouveau protocole de photothérapie antibactérienne. Je vous suis profondément reconnaissant à tous les deux, sans quoi ce travail n'aurait pas eu la finalité escomptée. Un grand merci pour toi, Naïma pour avoir pris de ton temps, surtout que tu étais en fin de rédaction et de préparation de thèse, pour effectuer les manip de microbiologie mais aussi pour être venu le samedi ou le dimanche compter les petites bêtes... Mes remerciements vont également à tous les membres de l'IUT génie biologique du Limousin, plus particulièrement à Karine et Raymonde.

Je remercie également tous les membres permanents du laboratoire pour leur amabilité et leur gentillesse. En espérant oublier personne, Vincent C. pour ses aides précieuses de paillasse, Vincent G. et Rachida pour leur bonne humeur, Michèle pour sa disponibilité en tant que "préparatrice de commande" et notre chère secrétaire Sylvie pour le "bordel" administratif.

J'ajoute mes remerciements à tous les thésards, Ahmad et Jean-Pierre la relève porphyrinique, Cédric et son calme habituel, Loïc et son côté "radioactif", Benjamin, Pierre-Henri et Pierre-Antoine. Je ne peux oublier les anciens thésards notamment mes deux mentors porphyrinistes, Marc et Florian, pour la transmission de votre savoir-faire quand je n'étais encore que votre "padawan". Virginie, François et Yannick pour l'accueil que vous m'avez fait à mon arrivée dans le bureau et pour tous ces moments partagés. Carmen pour avoir su mener "synthèses chimiques et naturelles" à terme et pour tous les moments partagés également. Aline pour avoir pu travailler avec toi dans la synthèse des macrocycles tétrapyrroliques et pour notre séjour à Lisbonne. Les anciens de l'équipe nucléotide, Romain pour ses jeux de mots légendaires et Karine. Sans oublier les biologistes, Raphaël et Chris.

Je remercie également le Conseil Régional du Limousin pour le financement de ces trois années de thèse sur le programme du Fond Social Européen, me permettant de travailler dans des conditions optimales.

Je garde bien entendu les meilleurs pour la fin. Même s'ils n'ont pas commencé la thèse en même temps que moi, ils sont embarqués dans le même bateau. Sans eux ces deux dernières années ne seraient pas à classer dans la catégorie "mes plus belles années à Limoges". En plus d'avoir été des collègues de boulot, je vais repartir de Limoges en laissant derrière moi deux amis. Nico et Juju, je vous remercie du fond du cœur de m'avoir offert votre amitié et c'est bien entendu réciproque. Tous ces moments inoubliables que l'on a pu passer autour de bonnes bouteilles de vins et autres (Château de Pez, Saint-Estèphe 2003 à consommer sans modération), nos sorties VIP's ou pas aussi déjantées les unes que les autres (au pays de Mickey ou à la place de la Motte par exemple), notre abonnement à vie dans l'art de sculpter la silhouette (dédicace à Will et Tony) avec la pratique du "bodypump" et "bodycombat" resteront pour moi des souvenirs formidables. Je ne peux oublier le plaisir que vous m'avez fait d'être venu participer à La Caunette 2010 (notre Cancun local du Minervois), le rendez-vous est pris pour de nouvelles aventures en 2011. Cette fois-ci vous savez à quoi vous attendre !!! Voilà un petit condensé de tous ces moments magiques passés avec vous deux. En espérant vous voir très bientôt à Montpellier ou à Limoges, je vous donne tout mon soutien pour finir la thèse. Vous allez me manquer les kikis...

Toujours dans la catégorie "les meilleurs pour la fin", la famille 40 rue d'Argenton, mes chers colocataires ou ex-colocataires. Je vous remercie de m'avoir soutenu durant ces années et d'avoir partagé ou plutôt de m'avoir supporté au quotidien. Par ordre chronologique, Jean, Cindy et Marion, à qui bien entendu j'associe Lucie et Benjamin, les premiers avec qui j'ai commencé la coloc. Flo, avec qui j'ai partagé l'aventure durant quelques mois. Et les derniers avec qui j'ai bouclé mon expérience coloc, Sandra, PJ et Emilie. Je garderai des souvenirs mémorables de notre cohabitation dans une ambiance joviale et sympathique. Nos chers repas coloc et toutes les soirées qu'on a pu y faire y sont forcément pour quelque chose. Quelques moments inoubliables, les parties de Times Up, Jungle Speed, Just Dance après de bons repas bien arrosés, le Noël 2009 avec champagne sous la neige ont été des franches rigolades. Je ne citerai pas toutes les anecdotes, il y aurait de quoi écrire un roman... Je vous souhaite tous une bonne continuation et surtout du bonheur dans vos vies respectives. Vous allez également tous me manquer... A bientôt les colocs.

J'associe dans cette catégorie mes amis d'enfance et mes amis de notre cher Minervois natal. Le retour au pays, afin de décompresser, m'ont été indispensables pour recharger les batteries. Votre soutien moral m'a beaucoup aidé. Lion, Fred et Cécile, San et Beubeu, Seb, Sof et Benoit ainsi que tous les autres, un grand MERCI.

Mes parents... Vous avez toujours cru en moi. Je vous dédie tout simplement ce travail. Je vous remercie de l'encouragement inébranlable que vous m'avez apporté. C'est grâce à vous que j'ai pu arriver jusque là, je vous en serai éternellement reconnaissant. J'associe mes profonds remerciements à tous les membres de ma famille qui m'ont toujours soutenu, mes grands-parents, mes tontons et taties, mes cousins et cousines sans oublier mon petit frère Léo. MERCI à tous.

Pour finir, je voudrais inclure une personne chère à mon cœur. Marie, merci d'être arrivé dans ma vie et de m'avoir soutenu durant ces derniers mois. Tu es mon moteur pour mes futures "recherches".

Table des matières

Table des matières

Introduction générale.....	1
Chapitre I Surfaces cellulosiques antibactériennes - Porphyrines et PACT	3
1- Les bactéries, 350 ans d'histoire.....	5
2- Les surfaces cellulosiques antibactériennes.....	7
2-1- Les sels d'ammoniums quaternaires.....	8
2-2- Les N-halamines.....	12
2-3- Les polymères de guanidine.....	15
2-4- Le chitosan.....	16
2-5- Les antibiotiques.....	19
2-6- L'argent et autres métaux.....	20
2-7- Les photosensibilisateurs.....	21
3- Les porphyrines : agent photobactéricide.....	22
3-1- Structure.....	22
3-2- Propriétés spectrales.....	26
3-2-1- Spectroscopie UV-Visible.....	26
3-2-2- Résonance magnétique nucléaire.....	27
3-2-2-1- Spectroscopie RMN du proton.....	28
3-2-2-2- Spectroscopie RMN du carbone.....	29
3-2-3- Spectrométrie de masse MALDI et ESI.....	29
3-3- Méthodes de synthèse.....	30
3-3-1- Synthèse de <i>méso</i> -porphyrines.....	31
3-3-1-1- Condensation de pyrrole sur des aldéhydes.....	31
3-3-1-2- Condensation de dipyrrométhane sur des aldéhydes.....	34
3-3-2- Synthèse de porphyrines β -substituées.....	36
3-3-2-1- À partir d'unités monopyrroliques.....	36
3-3-2-2- À partir d'unités di et tripyrroliques.....	38
3-3-2-3- À partir d'unités tétrapyrroliques.....	39
3-3-3- Obtention de porphyrines β -substituées à partir de pigments animaux ou végétaux.....	39
3-3-3-1- Pigments d'origine animale.....	39
3-3-3-2- Pigments d'origine végétale.....	40
3-4- Domaines d'applications.....	41
3-4-1- Applications chimiques.....	41
3-4-1-1- Oxydations thermiques catalysées par les métalloporphyrines.....	41
3-4-1-2- Oxydations photo-induites.....	44
3-4-1-3- Vers la photodécomposition de l'eau.....	46
3-4-2- Porphyrines et dispositifs photoniques.....	47
3-4-3- Modélisation de l'effet d'antenne du système photosynthétique.....	48
3-4-4- Applications thérapeutiques des porphyrines.....	49
3-4-4-1- La photothérapie dynamique des cancers.....	49
3-4-4-2- Utilisation en tant qu'agents antiviraux.....	52
3-4-4-3- Utilisation dans le traitement de la cécité.....	53
4- PACT et surfaces photobactéricides.....	54
4-1- Historique de la photoinactivation des cellules microbiennes.....	54
4-2- Les processus photochimiques.....	55
4-3- Mécanisme de la photoinactivation des cellules bactériennes.....	56
4-4- Développement de la PACT.....	59
4-5- Les surfaces photobactéricides : un autre aspect de la PACT.....	61
5- Objectifs du travail.....	65
Chapitre II Tissus cellulosiques triazinyl <i>méso</i>-arylporphyriniques	67
1- Introduction.....	69
2- Stratégie de synthèse.....	69
3- Synthèse des photosensibilisateurs aminés.....	72
3-1- Synthèse de la mono-nitrophényl triphénylporphyrine (TPP-NO ₂).....	72

3-2-	Synthèse de la mono-aminophényl triphénylporphyrine (TPP-NH ₂)	72
3-3-	Synthèse de la porphyrine hydrosoluble anionique (TPPS-NH ₂).....	73
3-4-	Synthèse de la porphyrine aminée cationique <i>trans</i>	73
3-4-1-	Préparation du dipyrrométhane.....	73
3-4-2-	Obtention du composé aminé cationique <i>trans</i>	74
3-5-	Caractérisations	75
3-5-1-	Spectroscopie UV-Visible	75
3-5-2-	Spectrométrie de masse.....	77
3-5-3-	RMN du proton.....	78
4-	Formation du lien porphyrine-triazine	82
4-1-	L'acide trichlorocyanurique (ATC).....	82
4-1-1-	Propriétés	82
4-1-2-	Quelques applications	83
4-1-2-1-	<i>Déshydratation</i>	83
4-1-2-2-	<i>Halogénéation</i>	84
4-1-2-3-	<i>Interconversion de groupes fonctionnels</i>	84
4-1-2-4-	<i>Oxydation/Réduction</i>	85
4-1-2-5-	<i>Protection/Déprotection</i>	85
4-2-	Porphyrine neutre-triazine-pipéridine	85
4-2-1-	Monomère porphyrinique	85
4-2-2-	Dimère porphyrinique.....	86
4-3-	Porphyrine sulfonée-triazine-sulfanilate de sodium	86
4-4-	Porphyrine cationique-triazine-pipéridine.....	87
4-5-	Caractérisations	87
4-5-1-	Spectroscopie UV-Visible	87
4-5-2-	Spectrométrie de masse.....	88
4-5-3-	RMN du proton.....	88
5-	Tissus triazinyl porphyriniques.....	91
5-1-	Elaboration des tissus	92
5-2-	Caractérisations des surfaces.....	94
5-2-1-	IR par réflectance (ATR-FTIR)	94
5-2-2-	UV-Visible par réflectance diffuse (DRUV)	96
5-2-3-	Analyse thermogravimétrique (ATG).....	98
5-2-4-	Microscopie électronique à balayage (MEB).....	99
6-	Conclusions	100
Chapitre III Tissus cellulosiques triazolyl méso-tritolylporphyriniques.....		101
1-	Introduction	103
2-	Stratégie de synthèse.....	103
3-	Synthèse du photosensibilisateur propargylé.....	104
3-1-	Synthèse de la mono-hydroxyphényl tritolylporphyrine (TTP-OH)	104
3-2-	Synthèse de la mono-(3-propargyloxyphényl) tritolylporphyrine.....	105
3-3-	Métabolisation au zinc de la porphyrine propargylée.....	105
3-4-	Caractérisations	106
3-4-1-	Spectroscopie UV-Visible	106
3-4-2-	Spectrométrie de masse.....	106
3-4-3-	RMN du proton.....	107
4-	Azidation de la cellulose par le système PPh ₃ /CBr ₄ /NaN ₃	109
5-	Tissus triazolyl porphyriniques.....	110
5-1-	"Click-Chemistry", état de la question	110
5-1-1-	Cycloaddition 1,3-dipolaires : cas particuliers des azotures et alcynes.....	111
5-1-2-	Découverte du cuivre(I) comme catalyseur régiosélectif.....	112
5-1-3-	Point de vue mécanistique	114
5-1-4-	Quelques exemples... ..	115
5-2-	Elaboration des tissus	116
5-3-	Caractérisations des surfaces.....	117
5-3-1-	IR par réflectance (ATR-FTIR)	117
5-3-2-	UV-Visible par réflectance diffuse (DRUV)	118
5-3-3-	Analyse thermogravimétrique (ATG).....	119
5-3-4-	Microscopie électronique à balayage (MEB).....	120

6- Conclusions	120
Chapitre IV Tissus cellulosiques protoporphyriniques	121
1- Introduction	123
2- Stratégie de synthèse.....	124
3- Synthèse du précurseur protoporphyrinique	126
3-1- Synthèse du bras éthylène glycol monofonctionnel	126
3-2- Couplage du bras monofonctionnel sur la Pp IX.....	126
3-3- Déprotection de la protoporphyrine IX modifiée	128
3-4- Caractérisations	128
3-4-1- Spectroscopie UV-Visible	128
3-4-2- Spectrométrie de masse.....	129
3-4-3- RMN du proton.....	129
4- Fonctionnalisation de la cellulose par polymérisation radicalaire	132
4-1- Mécanisme	132
4-2- Effet de l'acide méthacrylique	134
4-3- Effet de la concentration en cérium (IV).....	134
5- Tissus protoporphyriniques.....	135
5-1- Caractérisations des surfaces.....	136
5-1-1- IR par réflectance (ATR-FTIR)	136
5-1-2- UV-Visible par réflectance diffuse (DRUV)	137
5-1-3- Analyse thermogravimétrique (ATG).....	138
5-1-4- Microscopie électronique à balayage (MEB).....	140
6- Conclusions	140
Chapitre V Étude de la photoinactivation bactérienne.....	141
1- Production d'oxygène singlet	143
2- Importance de la source lumineuse.....	144
3- Photoinactivation bactérienne	145
3-1- Tissus triazinyl porphyriniques	145
3-2- Tissus triazolyl porphyriniques	150
3-3- Tissus protoporphyriniques.....	151
4- Conclusions	151
Conclusion générale et perspectives	155
Chapitre VI Partie expérimentale	157
1- Réactifs et solvants	159
2- Chromatographie	160
2-1- Chromatographie analytique	160
2-2- Chromatographie préparative.....	161
3- Analyses physico-chimiques.....	161
3-1- Ultraviolet-visible	161
3-2- Infra-rouge	161
3-3- Température de fusion.....	161
3-4- Résonance magnétique nucléaire	162
3-5- Spectrométrie de masse.....	162
3-6- Analyse thermogravimétrique	162
3-7- Microscopie électronique à balayage	162
4- Détermination du taux de greffage en photosensibilisateur	162
5- Appareillage d'activation micro-ondes.....	163
6- Rendement quantique d'oxygène singlet (1O_2).....	163
7- Synthèses	165
8- Photoinactivation bactérienne.....	190
Liste des produits synthétisés	195

Liste des abréviations

Liste des abréviations

- AFM** : microscopie à force atomique
- AIBN** : azo bis-isobutyronitrile
- ATC** : acide trichlorocyanurique
- ATG** : analyse thermogravimétrique
- ATRP** : polymérisation radicalaire par transfert d'atome
- Boc** : tert-butyloxycarbonyle
- BTCA** : acide butan-1,2,3,4-tétracarboxylique
- CAN** : cérium ammonium nitrate
- CCM** : chromatographie sur couche mince
- CMI** : concentration minimale inhibitrice
- coll.** : collaborateur
- CTA** : agent de transfert de chaîne
- CuAAC** : cycloaddition d'un azide et d'un alcyne, catalysée par le cuivre (I)
- DFT** : théorie de la densité fonctionnelle
- DIPEA** : diisopropyléthylamine
- DMAEMA** : 2-(diméthylamino)éthylméthacrylate
- DRUV** : ultraviolet par réflectance diffuse
- éq.** : équivalent
- ESI** : ionisation par électrospray
- h** : heure
- Hp** : hématorphyrine
- HpD** : hématorphyrine dérivé
- H₂TPP** : 5,10,15,20-tétraphényl porphyrine
- H₂TTP** : 5,10,15,20-tétratosyl porphyrine
- IR** : infrarouge

J : constante de couplage

LCSN : Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles

m/z : rapport masse sur charge

MAA : acide méthacrylique

MALDI : désorption-ionisation laser assisté par matrice

MCPDB : méthoxycarbonylphenyl dithiobenzoate

MEB : microscopie électronique à balayage

min : minute

M.O. : micro-ondes

PACT : photochimiothérapie antibactérienne

PDT : photothérapie dynamique

PEI : polyéthylèneimine

PET : polyéthylène téréphtalate

PHMG : polyhexaméthylène de guanidine

PMNP : polymyxine nonapeptide

PNIPAAm/PU : poly N-isopropylacrylamide/polyuréthane

Pp IX : protoporphyrine IX

ppm : partie par million

PS : photosensibilisateur

R_f : rapport frontal

RMN : résonance magnétique nucléaire

s : singulet

s_{él} : singulet élargi

d : doublet

dd : double doublet

t : triplet

q : quadruplet

qt : quintuplet

m : multiplet

SM : spectrométrie de masse

TA : température ambiante

T_f : température de fusion

TFA : acide trifluoroacétique

H₂TMPyP : 5,10,15,20-tétra N-méthylpyridinium porphyrine

TMS : tétraméthylsilane

TPP-NH₂ : 5-(4-aminophényl)-10,15,20-triphényl porphyrine

TPP-NO₂ : 5-(4-nitrophényl)-10,15,20-triphényl porphyrine

TPPS-NH₂ : 5-(4-aminophényl)-10,15,20-tri(4-sulphonatophényl) porphyrine

TTP-OH : 5-(4-hydroxyphényl)-10,15,20-tritoly porphyrine

UFC : unité formant colonie

uma : unité de masse atomique

UV : ultraviolet

VIH : virus de l'immunodéficience humaine

ε : coefficient d'absorption molaire

λ : longueur d'onde

v : nombre d'onde

Φ (¹O₂) : rendement quantique en oxygène singulet

Introduction générale

Introduction générale

Depuis une vingtaine d'années, la recherche et le développement de nouveaux actifs antibactériens a pris un essor considérable pour répondre efficacement aux besoins actuels de lutte contre la prolifération microbienne (désinfectants, textiles...). Parmi ceux-ci, les matériaux et plus précisément les surfaces antibactériennes ont retenus l'attention de nombreuses équipes. Ainsi, la modification de surfaces synthétiques (nylon, PET...) ou naturelles (coton, laine...) par divers agents aux propriétés antibactériennes connues, comme les ammoniums quaternaires, les N-halamines, le chitosan et les sels d'argent a fait l'objet de nombreux travaux. Les photosensibilisateurs tétrapyrroliques tels que les porphyrines représentent une nouvelle classe d'agents antibactériens car leur activité bactéricide est induite par la lumière visible. En raison de cette propriété particulière, les chercheurs se sont intéressés aux applications photo-biologiques de ces composés. Plus récemment, cette particularité a été utilisée pour prévenir le développement des bactéries en particulier les bactéries pathogènes et pour éviter les phénomènes de multi-résistance des bactéries vis-à-vis des bactéricides classiques tels que les antibiotiques. La photothérapie antibactérienne (PACT) consiste à induire un effet bactéricide sous l'action de la lumière visible en présence d'un photosensibilisateur. Le microorganisme est détruit par une espèce réactive toxique produit au cours de ce processus, l'oxygène singulet. Plus récemment encore, notre laboratoire s'est intéressé à des photo-antibiotiques solides par l'élaboration, à partir de cellulose et de porphyrines naturelles ou synthétiques, de films photobactéricides actifs aussi bien sur les bactéries à Gram⁺ que sur les bactéries à Gram⁻.

Dans le cadre du programme d'élaboration de matériaux photobactéricides entrepris au Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles (LCSN), nous nous proposons dans le présent travail de fixer de manière covalente, par un dérivé "1,3,5-triazine" ou par des réactions de type "Click-Chemistry" et "couplage peptidique", des porphyrines naturelles ou synthétiques sur le coton. Enfin, pour évaluer l'activité antibactérienne de ces nouveaux supports, la mise en place d'un nouveau protocole de photoinactivation de deux bactéries modèles, *Staphylococcus aureus* (bactérie à Gram⁺) et *Escherichia coli* (bactérie à Gram⁻), a été réalisée.

Chapitre I Surfaces cellulosiques antibactériennes - Porphyrines et PACT

Nous nous proposons dans cette partie bibliographique de présenter d'une part le contexte général avec un bref historique sur les bactéries et le développement actuel des surfaces cellulosiques antibactériennes. D'autre part quelques généralités sur les porphyrines, la PACT et les surfaces photobactéricides seront décrites.

1- Les bactéries, 350 ans d'histoire...

Même avant la découverte des micro-organismes, on suspectait déjà l'existence et le rôle de ceux-ci dans les maladies. Le philosophe romain Lucrèce (à peu près 98-55 av. J-C) et au 16^e siècle le médecin Girolamo Fracastoro (1478-1553) avaient suggéré que des êtres vivants invisibles provoquaient les maladies. Les premières observations au microscope ont été sans doute réalisées entre 1625 et 1630 sur des abeilles et des charançons par Francesco Stelluti à l'aide d'un microscope probablement fabriqué par Galilée. En 1665, le premier dessin d'un micro-organisme a été publié par Robert Hooke dans *Micrographia*. Cependant c'est Antonie van Leeuwenhoek qui a observé sans le savoir des bactéries, qu'il appela "animalcules", avec son propre microscope en 1676.^[1] Aussi importantes qu'aient été les observations de van Leeuwenhoek, la microbiologie n'a eu que peu d'intérêt pendant les 200 années suivantes. Le débat sur la théorie de la génération spontanée et les études, sur le rôle joué par les micro-organismes dans l'apparition des maladies, ont conduit finalement à ce qui est appelé maintenant "l'âge d'or de la microbiologie".

Entre 1857 et 1885, les travaux de Louis Pasteur et de Robert Koch ont révolutionné la microbiologie médicale. Pasteur a démontré l'implication des micro-organismes dans les processus de fermentation (réfutant la théorie de la génération spontanée), et leur rôle en tant d'agents infectieux. Il a également conçu des milieux de culture, des procédés de destruction des micro-organismes comme l'autoclave et la pasteurisation. Robert Koch, quant à lui, a mis au point avec ses collaborateurs les techniques de culture des bactéries sur milieu solide. Il a travaillé sur le choléra, la maladie du charbon (anthrax) et la tuberculose. Il a pu démontrer de façon claire qu'une bactérie pouvait être l'agent responsable d'une maladie infectieuse et il a proposé une série de postulats, confirmant le rôle étiologique d'un micro-organisme dans une maladie.

Si les bactéries étaient connues à la fin du 19^e siècle, aucun traitement antibactérien n'existait encore. En 1929 Alexander Fleming a découvert que le champignon *Penicillium* produisait une substance, la pénicilline, premier antibiotique qui pouvait contrôler avec succès les infections bactériennes. La découverte de cette molécule a stimulé la recherche d'autres antibiotiques. Selman Waksman a pu isoler en 1944 une nouvelle substance, la streptomycine, produit par l'actinomycète *Streptomyces griseus* et capable de traiter avec succès la tuberculose. Ces découvertes ont conduit à la recherche

^[1] Porter J.R., *Bacteriol. Rev.*, **1976**, 40, 260-269.

d'autres antibiotiques (d'origine bactérienne ou de synthèse) dans le monde entier pour répondre aux problèmes des maladies infectieuses. Dans les années 1990, l'idée que ces maladies ne constituaient plus un danger pour la santé publique, est devenue obsolète. De nos jours, la population mondiale est continuellement confrontée à de nouvelles maladies infectieuses et à la réémergence de maladies anciennes que l'on pensait avoir éliminées (comme la tuberculose, la dengue ou encore la fièvre jaune). Entre 1940 et 2004 ont été signalés dans le monde 335 cas de maladies émergentes (figure 1).^[2]

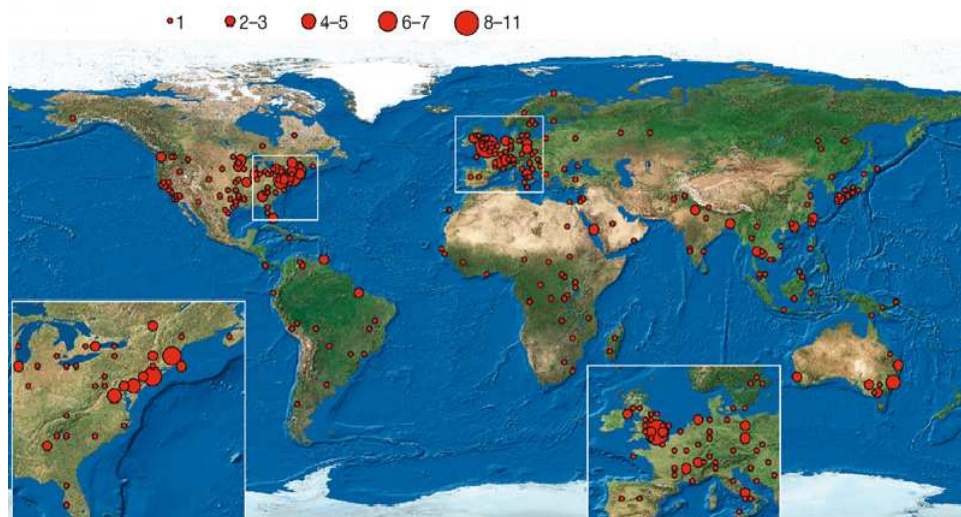


Figure 1 : Origine géographique des cas de maladies émergentes entre 1940 et 2004.^[2]

Le problème est d'autant plus préoccupant que depuis 50 ans, le nombre de vecteurs (tels que les insectes par exemples) devenus résistant aux pesticides augmente aussi et que ces maladies émergentes récentes, sont presque toutes des zoonoses (maladies pouvant à la fois toucher l'homme et l'animal). Le nombre d'apparition de ces maladies a presque été multiplié par 4 depuis 50 ans, et plus encore depuis les années 1980. La figure 2 illustre la répartition des agents pathogènes responsables des 335 cas recensés de nouvelles maladies émergentes.

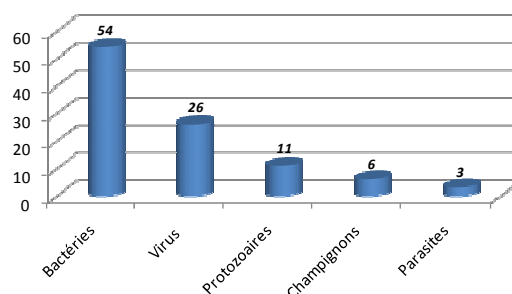


Figure 2 : Répartition en % des agents pathogènes responsables des maladies émergentes.^[2]

^[2] Jones K.E., Patel N.G., Levy M.A., Storeygard A., Balk D., Gittleman J.L., Daszak P., *Nature*, **2008**, 451, 990-994.

Depuis plusieurs années, en raison de l'émergence de ces maladies, la recherche de nouveaux agents antibactériens et des sources potentielles d'infection bactérienne s'est largement développée. En effet, le milieu hospitalier (appareils chirurgicaux, zone à maintenir stérile, cathéters), l'industrie agro-alimentaire (emballages) et textile (vêtements techniques, blouses médicales, vêtements de sport, literie...) sont très demandeur de nouvelles technologies pour prévenir une éventuelle contamination bactérienne. A une autre échelle, le bioterrorisme par la conception d'armes biologiques (plus dangereuses que les armes chimiques) avec l'utilisation de virus, bactéries, champignons ou toxines constitue également une source éventuelle de contamination. Ces exemples montrent le large éventail de la demande actuelle du développement de nouveaux actifs antibactériens.

De nombreux travaux se sont orientés vers l'élaboration de nouveaux moyens de lutte pour éviter l'apparition des phénomènes de multi-résistances, qui diffèrent des antibiotiques classiques utilisés jusqu'à présent. En particulier, depuis une dizaine d'années l'élaboration de nouveaux matériaux (nanoparticules, surfaces...) antimicrobiens est en plein essor. Parmi ces matériaux, ceux à base de cellulose représentent un intérêt tout particulier en raison de son origine naturelle, sa ressource inépuisable et de la valorisation d'agro-ressources. Après avoir défini ce polymère nous nous attacherons à faire une mise au point bibliographique sur les différentes surfaces celluloses antibactériennes développées actuellement.

2- Les surfaces celluloses antibactériennes

La cellulose, polymère naturel renouvelable le plus abondant à la surface de la terre, est un polysaccharide végétal constitué de l'enchaînement d'unités glucose reliées entre elles par des liaisons osidiques β -(1-4), dont l'unité répétitive est le motif cellobiose (figure 3).

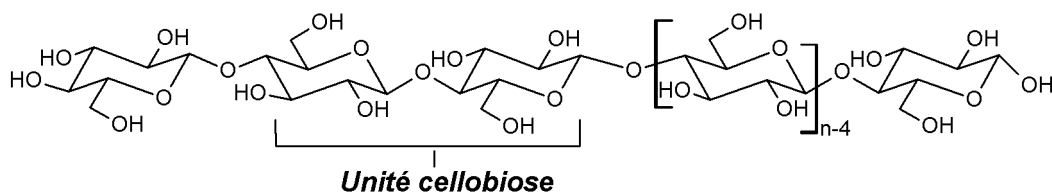


Figure 3 : Représentation schématique de la cellulose.

Depuis plus d'un siècle la valorisation de ce polymère a fait l'objet de nombreux travaux. En particulier, la recherche de matériaux celluloses à haute valeur ajoutée possédant des propriétés bien spécifiques telles qu'antibactériennes, de protection aux UV, similaires aux insecticides, de retardement au feu, ainsi que médicinales représente une nouvelle orientation de la chimie de ce

polysaccharide.^[3] Les substrats cellulosiques, plus particulièrement les textiles et tissus, représentent un excellent environnement pour la croissance de micro-organismes ainsi qu'un matériel de choix capable de retenir les bactéries, champignons et virus.^[4] Afin de conférer aux matériaux, une activité antibactérienne durable et permanente dans le temps, une des approches les plus efficaces dans leur élaboration est l'incorporation de composés biocides au sein de la surface du matériel au moyen d'un greffage chimique, évitant ainsi tout phénomène de relargage du composé actif. La fonctionnalisation de substrat cellulosique par divers agents antibactériens, comme les ammoniums quaternaires, les N-halamines, les polymères de guanidine, le chitosan, les antibiotiques, les sels d'argent et autres métaux ou encore des photosensibilisateurs a été reportée dans la littérature.

2-1- Les sels d'ammoniums quaternaires

L'activité antibactérienne des ammoniums quaternaires (R_4N^+, X^-) est connue depuis la fin des années 1960.^[5] En raison de leur fort potentiel antibactérien, leur faible toxicité et l'absence de réaction cutanée secondaire, ces composés font toujours l'objet, 50 ans après, de nombreux travaux. L'activité antibactérienne de ces composés est fortement dépendante de la structure globale moléculaire et/ou de la longueur de la chaîne alkyl. Cette dernière présente une partie hydrophobe qui est compatible avec la bicouche phospholipidique de la membrane bactérienne cytoplasmique.

Le mécanisme général de l'action antibactérienne de ces composés^[6] peut être décrit en quatre étapes :

- Adsorption des charges positives des ammoniums sur les charges négatives à la surface cellulaire des microorganismes, par interaction électrostatique,
- Diffusion au sein de la paroi bactérienne grâce à la longue chaîne alkyl lipophile,
- Liaison puis désorganisation de la membrane cytoplasmique,
- Perte des constituants cytoplasmiques causant la mort de la bactérie.

Abel et coll.^[7] ont reporté en 2002, la modification de surfaces cellulosiques telle que le papier filtre par l'utilisation d'un substrat aminé, le DABCO (1,4-diazabicyclo[2.2.2]octane).

^[3] (a) The regents of the University of California, PCT, WO 10648, **1996** ; (b) Ciba-Geigy, PCT, WO 96/25549, **1995** ; (c) Courtaulds Fibers, PCT, WO 96/05356, **1994**; (d) Buschmann H.J., Denter U., Knittel D., Schollmeyer E., *J. Text. Inst.*, **1998**, 89, 554.

^[4] Lim S.H., Hudson S.M., *Carbohydr. Polym.*, **2004**, 56, 227-234.

^[5] (a) Salton M.R.J., *J. Gen. Physiol.*, **1968**, 52, 227S-252S ; (b) Hugo W.B., Frier M., *Appl. Microbiol.*, **1969**, 17, 118-127 ; (c) Tomlison E., Brown M.R., Davis S.S., *J. Med. Chem.*, **1977**, 20, 1277-1282 ; (d) Denyer S.P., *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, **1995**, 36, 227-245 ; (e) Mc Donnell G., Russel A.D., *Clin. Microbiol. Rev.*, **1999**, 12, 147-179.

^[6] (a) Hugo W., Franklin T.J., Snow G.A., *Biochemistry of Antimicrobial Action*, Chapman and Hall: London, **1981**; (b) Block S.S., *Disinfection, Sterilization and Preservation*, 4th ed. Lea & Febiger: Philadelphia, **1991**.

^[7] Abel T., Iolani J.L., Engel R., Filshinskaya M., Melkonian A., Melkonian K., *Carbohydr. Res.*, **2002**, 337, 2495-2499.

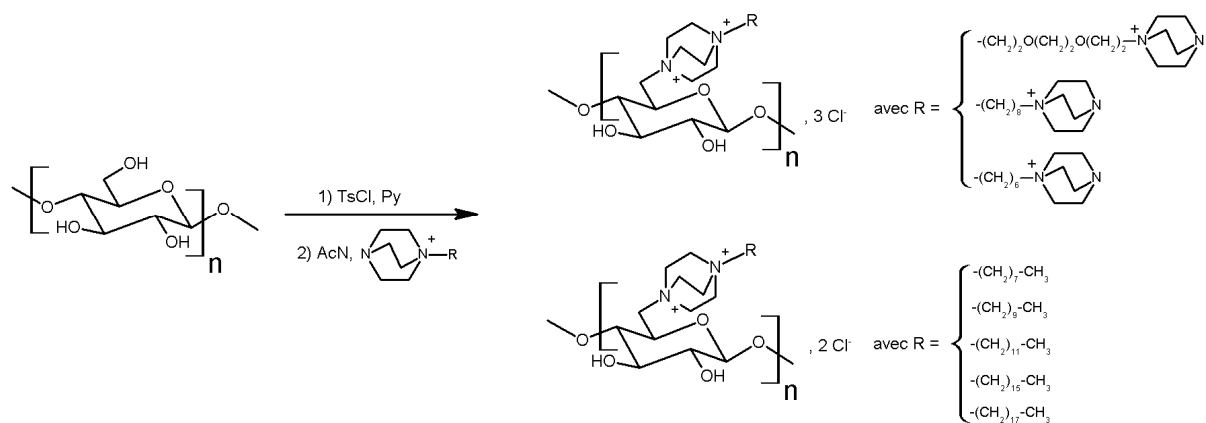


Figure 4 : Modification de la cellulose par différents substrats de DABCO modifié.^[7]

Le greffage des divers composés cationiques a permis l'obtention d'une surface polycationique (figure 4). Les différents matériaux ont été testés sur un panel de sept bactéries ; *B. cereus*, *M. luteus*, *S. aureus*, *E. coli*, *E. aerogenes*, *E. cloacae* et *P. vulgaris*. Les résultats ont montré que toutes les surfaces présentaient des activités bien différentes. En effet, les surfaces possédant un groupement polaire (DABCO cationique) en position terminale ou une chaîne lipophile à 8 carbones n'ont présenté peu ou pas d'activité vis-à-vis des bactéries testées. En revanche, les surfaces avec des chaînes à 10, 12 et 18 carbones ont été bactéricides sur les bactéries à gram⁺ tandis que l'activité sur les bactéries à gram⁻ a été variable. Pour les surfaces ayant une chaîne à 16 carbones, une activité bactéricide est observée sur toutes les souches bactériennes. Ces premiers résultats ont mis en évidence l'influence de la longueur de la chaîne lipophile sur l'activité maximale antibactérienne.

Après avoir élaboré des surfaces synthétiques antibactériennes à base de nylon ou de polyéthylène téréphtalate (PET), Klibanov et coll.^[8] ont, en 2003, fonctionnalisé du coton par la polyéthylèneimine (PEI) portant des ammoniums quaternaires afin d'obtenir une activité antibactérienne et antifongique. De la même façon, Cen et Neoh^[9] ont développé une technique de dérivatisation (traitement physique par la méthode plasma) de surface polymérique synthétique (PET) et cellulosique (papier filtre) afin de créer des groupements ammoniums hexylpyridinium (figure 5). Une très bonne activité antimicrobienne sur *E. coli*, dépendante du pourcentage en ammoniums quaternaires, a été mise en évidence.

^[8] Lin J., Qiu S., Lewis K., Klibanov A.M., *Biotechnol. Bioeng.*, **2003**, 83, 168-172.

^[9] Cen L., Neoh K.G., Kang E.T., *Langmuir*, **2003**, 19, 10295-10303.

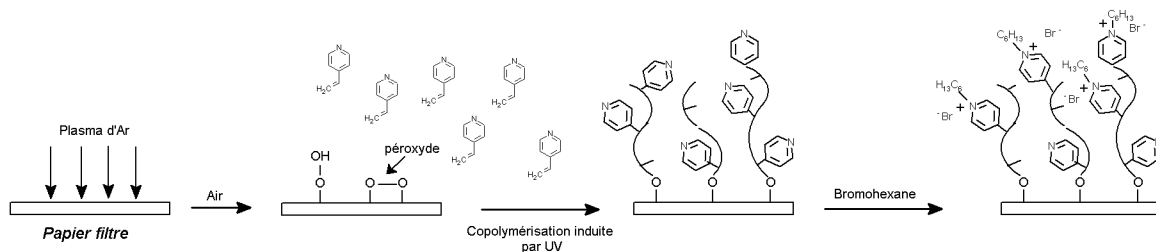


Figure 5 : Cellulose antibactérienne obtenue par copolymérisation du 4-vinylpyridine induite par irradiation UV.^[9]

Utilisant également le traitement plasma pour la fonctionnalisation du substrat, Jampala et coll.^[10] ont reporté l'élaboration de fibres celluloses, dotées d'excellentes propriétés antibactériennes.

La technique de polymérisation radicalaire, selon différents processus, a également fait l'objet de plusieurs travaux. Ainsi la méthode par transfert d'atome (ATRP), développée par Matyjaszewski^[11] pour la polymérisation du 2-(diméthylamino)éthyl méthacrylate ou DMAEMA (figure 6), utilisant le bromure d'acide du 2-bromoisobutyrique comme initiateur actif, a été efficacement employée. Elle a permis l'élaboration de surfaces celluloses possédant de bonnes propriétés antibactériennes sur *E. coli* et antisporulantes sur *B. subtilis*.

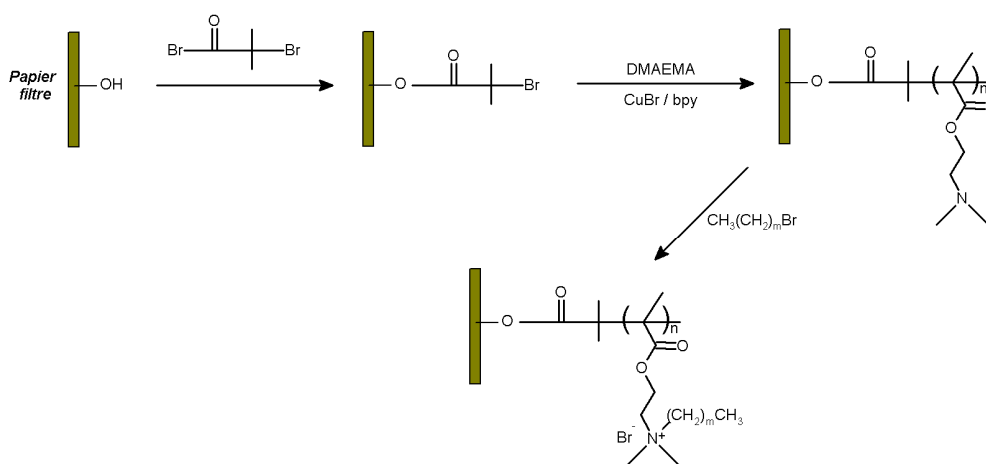


Figure 6 : Utilisation de l'ATRP pour la fixation de DMAEMA sur le papier filtre.^[11]

Roy et coll.^[12] ont étudié, quant à eux, une autre méthode de polymérisation radicalaire, le transfert de chaîne réversible addition-fragmentation (RAFT) utilisant le S-méthoxycarbonylphenyl dithiobenzoate (MCPDB) comme agent de transfert de chaîne (CTA) et l'azobisisobutyronitrile (AIBN) comme initiateur actif, pour la polymérisation du DMAEMA (figure 7). Les propriétés biologiques ont montré une activité bactéricide représentative sur *E. coli*, fonction de la longueur de la chaîne alkyle et du taux d'ammoniums quaternaires greffés à la surface du polymère.

^[10] Jampala S.N., Sarmadi M., Somers E.B., Wong A.C.L., Denes F.S., *Langmuir*, **2008**, 24, 8583-8591.

^[11] Lee B.S., Koepsel R.R., Morley S.W., Matyjaszewski K., Sun Y., Russel A.J., *Biomacromolecules*, **2004**, 5, 877-882.

^[12] Roy D., Knapp J.S., Guthrie J.T., Perrier S., *Biomacromolecules*, **2008**, 9, 91-99.

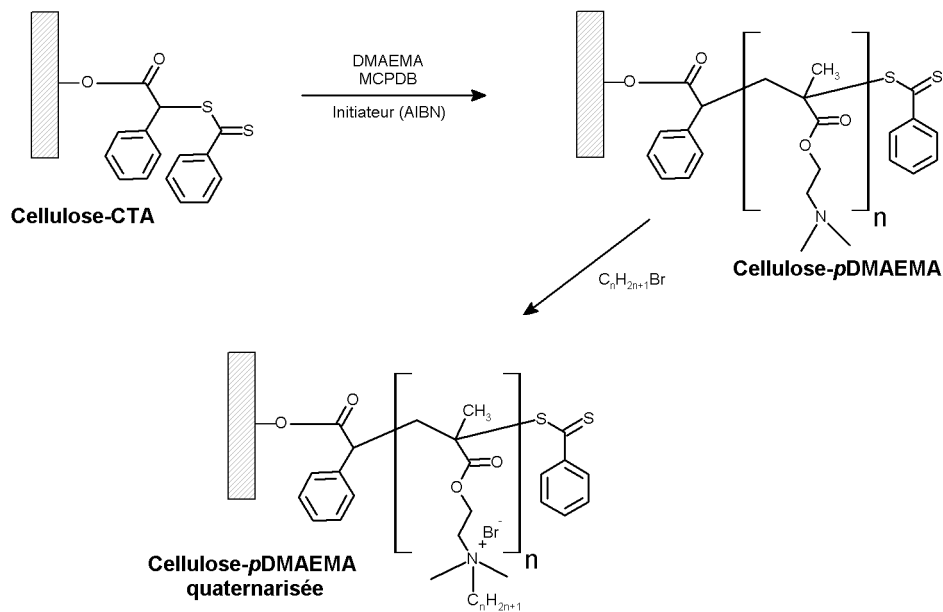


Figure 7 : Elaboration de surfaces cellulosiques bactéricides fonctionnalisées par la technique RAFT.^[12]

Une dernière méthode de fonctionnalisation a consisté à utiliser un dérivé triazine, très bien connu des spécialistes du textile. Wang et coll.^[13] ont préparé du coton antibactérien à activité durable vis-à-vis de *S. aureus*, portant des groupements benzyles multi-cationiques (figure 8).

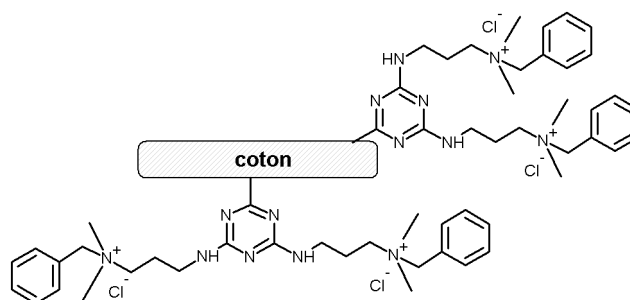


Figure 8 : Coton modifié par des groupements benzyles multi-cationiques.^[13]

Une analyse comparative de ces résultats a montré que deux facteurs semblent influencer l'activité antibactérienne de ces surfaces cationiques :

- la longueur de la chaîne alkyle
- la charge globale de surface

Des études récentes ont montré l'importance de la charge globale de surface en ammoniums quaternaires, l'efficacité d'inactivation ne dépendrait pas de la longueur de la chaîne alkyle.^[14]

^[13] Hou A., Zhou M., Wang X., *Carbohydr. Polym.*, **2009**, 75, 328-332.

^[14] Madkour A.E., Dabkowski J.M., Nüsslein K., Tew G.N., *Langmuir*, **2009**, 25, 1060-1067.

2-2- Les N-halamines

Une autre voie explorée pour le développement de surfaces antibactériennes cellulosiques à activité durable consiste à préparer des surfaces régénérables à partir de composés chlorés N-halamines. Ces composés présentent un large spectre de désinfection et leur capacité antimicrobienne est attribuée à la propriété oxydative de la liaison halamine, N-Cl ; ils ont été largement utilisés depuis les années 1980 dans le traitement des eaux. D'un point de vue mécanistique, l'action bactéricide de ces composés a été étudiée dès la fin des années 1970,^[15] ainsi leur mode d'action repose sur un ensemble de réactions chimiques entraînant le transfert direct de l'halogène électropositif du composé N-halamine vers des récepteurs appropriés de la cellule bactérienne. Ce procédé peut effectivement détruire ou inhiber le système enzymatique ou métabolique de la cellule en causant la mort de la bactérie. L'action régénérable de ces composés est illustrée sur la figure 9. Après destruction des micro-organismes, la liaison N-Cl est réversiblement transformée en liaison N-H qui peut être à son tour rendue à nouveau active par un traitement de chloration.

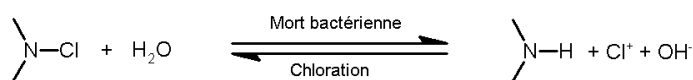


Figure 9 : Traitement antibactérien régénérable utilisant des composés N-halamines.

On distingue trois classes de composés N-halamines : les amines N-halamines, les amides N-halamines et les imides N-halamines. En ce qui concerne l'activité antibactérienne, imide > amide > amine alors que pour la stabilité l'ordre est inversé, amine > amide > imide. Ceci s'explique par les effets électroniques, la force de la liaison N-X est considérablement influencée par les groupements R₁ et R₂ (notons la structure N-halamine avec la formule générale : N(R₁R₂)-X avec X=Cl). Si R₁ et R₂ sont des groupements donneurs d'électrons (cas des amines N-halamines), la charge δ⁻ de l'azote augmente ce qui renforce la liaison N-X augmentant ainsi la stabilité du composé. L'activité antibactérienne s'en trouve diminuée car la libération du Cl devient difficile. En ce qui concerne des groupements électro-attracteurs (cas des amides et imides N-halamines), la fonction antimicrobienne s'en trouve augmentée alors que la stabilité diminue. Ces caractéristiques deviennent plus flexibles pour des surfaces polymériques possédant des motifs N-halamines.

Sun et Qian^[16] ont présenté en 2004 la synthèse de cellulose fonctionnalisée par des imides et amides N-halamines à motifs hydantoïnes et des amines N-halamines à motifs imidazolidinones (figure 10). Le pouvoir bactéricide des dérivés imides et amides s'est montré supérieur à celui des amines sur *E. coli*.

^[15] Kaminski J.J., Bodor N., Higuchi T., *J. Pharm. Sci.*, **1976**, 65, 553.

^[16] Qian L., Sun G., *J. Appl. Polymer Sci.*, **2004**, 91, 2588-2593.

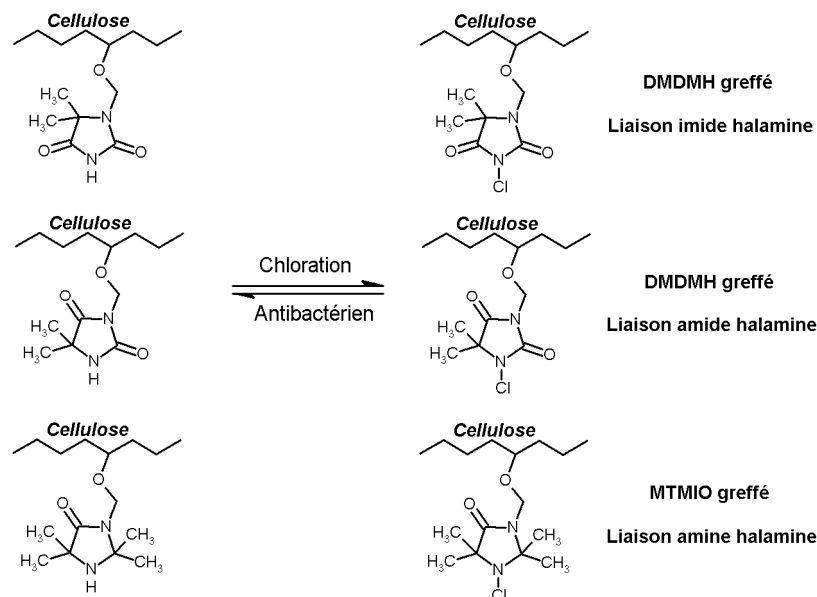


Figure 10 : Dérivés N-halamines hydantoïnes et imidazolidinones fixés sur des fibres cellulosiques.^[16]

Utilisant également des dérivés N-halamines à motifs hydantoïne, Huang et coll.^[17] ont décrit la fonctionnalisation de fibres cellulosiques (figure 11) possédant une activité bactéricide sur *E. coli* et *S. aureus*.

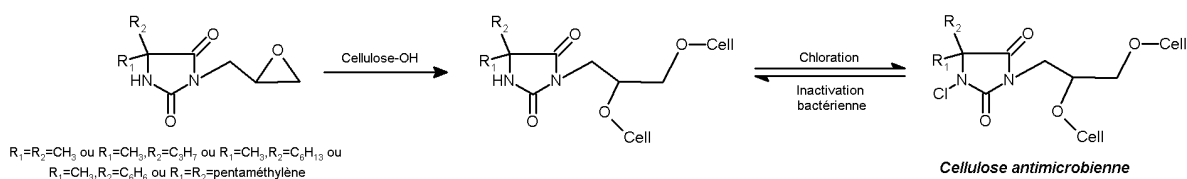


Figure 11 : Préparation de cellulose antibactérienne élaborée par Huang.^[17]

L'emploi d'un dérivé combiné hydantoïne et triazine (dichloro-*m*-aminophenyl-hydantoinyl-*s*-triazine ou DAPHT), également mis au point par Huang,^[18] a permis l'élaboration de cellulose à motif imide et amide N-halalime (figure 12). Ces surfaces ont été capables d'inactiver aussi bien les bactéries gram⁻ (*E. coli*) que les bactéries gram⁺ (*S. aureus*).

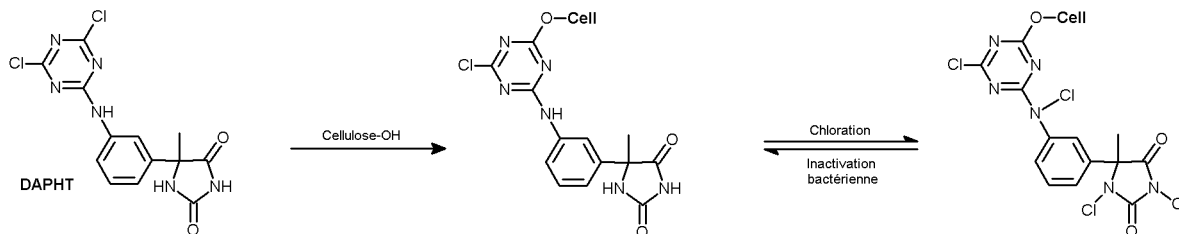


Figure 12 : Synthèse et fixation du DAPHT sur des fibres cellulosiques.^[18]

^[17] Liang J., Chen Y., Ren X., Wu R., Barnes K., Worley S.D., Broughton R.M., Cho U., Kocer H., Huang T.S., *Ind. Eng. Chem. Res.*, **2007**, 46, 6425-6429.

^[18] Lee J., Broughton R.M., Akdag A., Worley S.D., Huang T.S., *Fibers Polymers*, **2007**, 8, 148-154.

L'équipe de Huang ^[19] a également reporté l'élaboration de fibres celluloses fonctionnalisées par des dérivés imide N-halamine à motif imidazolidinone. Un acide polycarboxylique, l'acide butan-1,2,3,4-tétracarboxylique ou BTCA a été utilisé comme agent de greffage. L'inactivation des deux souches *E. coli* et *S. aureus* s'est avérée être particulièrement importante.

Comme dans le cas des ammoniums quaternaires, la technique de polymérisation radicalaire est largement utilisée pour la fonctionnalisation de fibres celluloses par des dérivés N-halamines mais la méthode utilisant le cérium (IV) comme initiateur actif est privilégiée. Ainsi, Sun et coll.^[20] ont décrit la préparation de coton cellulosique antibactérien fonctionnalisé par des N-halamines acycliques provenant de la polymérisation du méthacrylamide (figure 13). Les surfaces ont alors montré des propriétés biologiques remarquables, antibactériennes (*E. coli* et *S. aureus*), antifongiques (*C. tropicalis*) mais également antivirales (virus MS2).

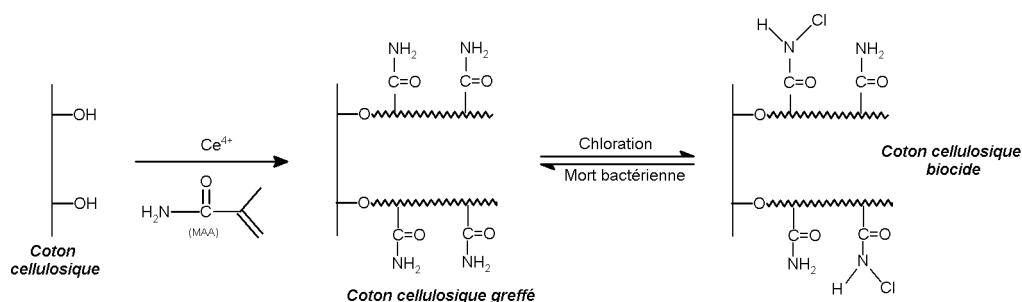


Figure 13 : Coton cellulosique bactéricide fonctionnalisé par des N-halamines acycliques.^[20]

Utilisant la même méthode de greffage, Sun et Yao ^[21] ont étudié la fonctionnalisation de textile cellulosique par polymérisation du 2,2,6,6-tétraméthyl-4-pipéridyl méthacrylate ou TMPMA (figure 14). Ces surfaces ont présenté un effet bactéricide permanent et rechargeable sur les souches *E. coli*, *S. aureus* et *S. epidermidis*.

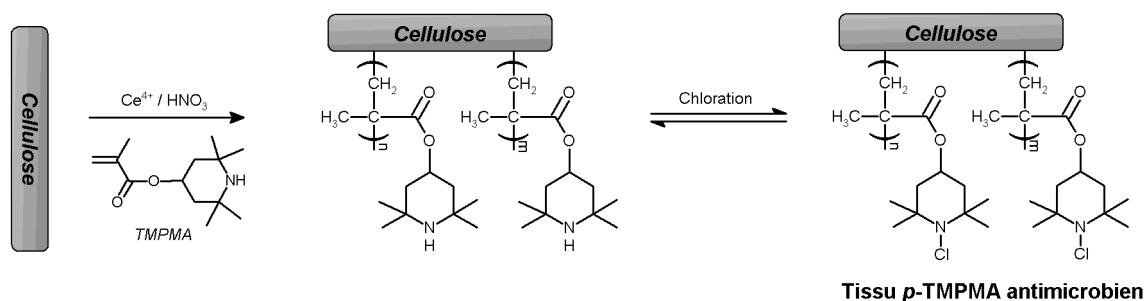


Figure 14 : Préparation et chloration du poly TMPMA greffé sur du coton cellulosique.^[21]

^[19] Ren X., Kocer H.B., Worley S.D., Broughton R.M., Huang T.S., *Carbohydr. Polym.*, **2009**, 75,683–687.

^[20] Luo J., Sun Y., *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.*, **2006**, 44, 3588-3600.

^[21] Yao J., Sun Y., *Ind. Eng. Chem. Res.* **2008**, 47, 5819–5824.

Une autre classe de N-halamines a également été étudiée, il s'agit des chloromélamines. Ces composés sont des amines N-halamines portés sur un noyau triazine dont leur stabilité et leur activité antibactérienne sont comprises entre celles d'une amine et d'un amide de N-halamine classique. Peu d'exemples de surfaces cellulosiques antibactériennes modifiées par des chloromélamines sont retrouvés dans la littérature. Cependant, Sun et coll.^[22] ont décrit la fixation du 2-amino-4-chloro-6-hydroxy-*s*-triazine (AHT) sur du coton cellulosique afin de lui conférer des propriétés antibactériennes (figure 15). Les surfaces ont alors présenté une activité bactéricide permanente et durable vis-à-vis des deux souches modèles que sont *E. coli* et *S. aureus*.

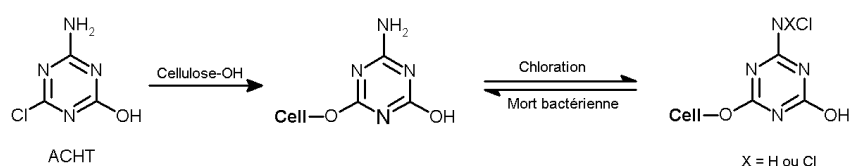


Figure 15 : Préparation de coton cellulosique antibactérien modifié par des chloromélamines.^[22]

2-3- Les polymères de guanidine

Les polymères de guanidine s'apparentent à des composés polycationiques hydrosolubles présentant un large spectre d'activité contre les bactéries à Gram positif et Gram négatif ainsi qu'une faible toxicité vis-à-vis des cellules animales. Leur mode d'action a été largement étudié au début des années 1980.^[23] L'action létale des polymères de guanidine sur les cellules bactériennes a été proposée comme étant basée sur une perte irréversible des constituants essentiels de la cellule bactérienne, se traduisant comme la conséquence directe de l'altération de la membrane cytoplasmique.

Utilisant ces propriétés létales, l'élaboration de surfaces antibactériennes fonctionnalisées par des polymères de guanidine a ainsi été entreprise. Guan et coll.^[24] ont développé le greffage de polyhexaméthylène de guanidine sur des fibres cellulosiques (figure 16), par polymérisation radicalaire utilisant la méthode au cérium (IV) et le glycidyl méthacrylate comme intermédiaire. Ces surfaces originales ont montré une excellente bactéricidie sur *E. coli*. De plus, le mécanisme de destruction bactérienne a pu être mis en évidence par AFM (Atomic Force Microscope) confirmant l'altération de la membrane cytoplasmique.

^[22] (a) Braun M., Sun Y., *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.*, **2004**, 42, 3818-3827 ; (b) Sun Y., Chen Z., Braun M., *Ind. Eng. Chem. Res.*, **2005**, 44, 7916-7920.

^[23] (a) Broxton P., Woodcock P.M., Gilbert P., *J. Appl. Bact.*, **1983**, 54, 345-353 ; (b) Broxton P., Woodcock P.M., Heatley F., Gilbert P., *J. Appl. Bact.*, **1984**, 57, 115-124.

^[24] Guan Y., Xiao H., Sullivan H., Zheng A., *Carbohydr. Polym.*, **2007**, 69, 688-696.

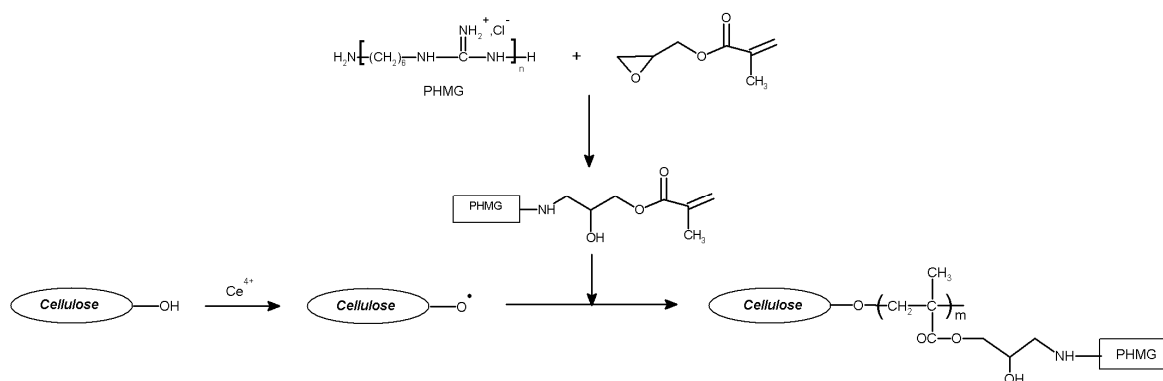


Figure 16 : Polymérisation radicalaire de polymère de guanidine modifié sur la cellulose.^[24]

2-4- Le chitosan

Le chitosan, polysaccharide constitué de l'enchaînement d'unités D-glycosamine liées entre elle par des liaisons β (1-4), est la forme désacétylée de la chitine. Une simple désacétylation alcaline (solution de NaOH, 40%) de la chitine permet l'obtention du chitosan (figure 17). Ce polymère peu coûteux, biodégradable et non-toxique, en fait un composé de choix en vue de possibles valorisations aussi bien chimiques que biologiques.

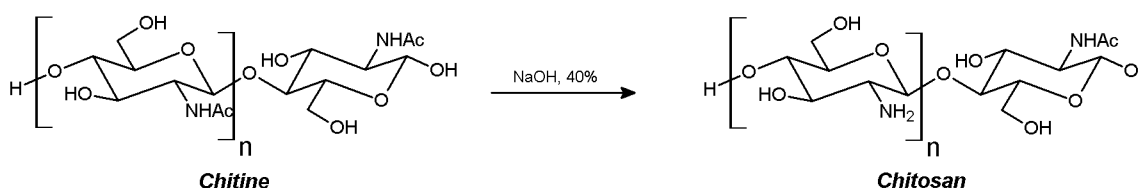


Figure 17 : Préparation du chitosan à partir de la chitine.

Les fonctions amines libres de ce polymère peuvent se protoner en milieu légèrement acide donnant ainsi un composé qui peut s'apparenter aux sels d'ammoniums quaternaires, faisant un bon candidat comme biocide polycationique. Ces fonctions ammoniums confèrent au chitosan des propriétés biologiques très intéressantes telles qu'anti-bactériennes, anti-fongiques ou encore anti-virales.^[25] Il présente notamment un large spectre d'inactivation bactérienne, les concentrations minimales inhibitrices (CMI) obtenues sur différentes souches sont présentées au tableau 1.

^[25] Rabea E.I., Badawy M.E-T., Stevens C.V., Smaghe G., Steurbaut W., *Biomacromolecules*, **2003**, 4, 1457-1465.

Tableau 1 : Concentration minimale inhibitrice du chitosan sur différentes souches bactériennes.^[26]

<i>Souche bactérienne</i>	CMI (ppm)
Gram⁺	
<i>Bacillus cereus</i>	1000
<i>Corynebacterium michiganensis</i>	10
<i>Micrococcus luteus</i>	20
<i>Staphylococcus aureus</i>	20
Gram⁻	
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	100
<i>Erwinia sp.</i>	500
<i>Erwinia carotovora subsp.</i>	200
<i>Escherichia coli</i>	20
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	700
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	500
<i>Xanthomonas campestris</i>	500

Le mécanisme exact du mode d'action antibactérien n'est pas totalement appréhendé mais plusieurs hypothèses sont avancées :

- la structure polycationique du chitosan permet de penser qu'il pourrait interagir avec les composants anioniques prédominants (lipopolysaccharides ou LPS et protéines à la surface des micro-organismes) ; en résulte une perméabilité différente causant la mort de la cellule bactérienne, induite par la perte des constituants intracellulaires.^[27]
- le chitosan pourrait former, en surface de la bactérie, une membrane polymère empêchant l'entrée des nutriments dans la cellule.^[28]
- le chitosan de faible poids moléculaire pourrait entrer au sein de la bactérie, se lier avec l'ADN et donc empêcher la transcription des ARNm et la synthèse des protéines, étapes indispensables au bon fonctionnement de la cellule.^[26, 29]
- les substances électronégatives pourraient s'adsorber avec le chitosan au sein de la cellule et flocculer, désorganisant l'activité physiologique de la bactérie et provoquant sa mort.^[30]

En raison de ses propriétés antibactériennes connues, le chitosan est largement utilisé pour l'élaboration de nouvelles surfaces antibactériennes. El-Tahlawy et coll.^[31] ont étudié en 2005 la fixation du chitosan sur la cellulose par l'intermédiaire du BTCA (acide butan-1,2,3,4-

^[26] Liu X. F., Guan Y. L., Yang D. Z., Li Z., Yao K. D., *J. Appl. Polymer Sci.*, **2001**, 29, 1324–1335.

^[27] (a) Vaara M., Vaara T., *Anti. Agents Chem.*, **1983**, 24, 114–122 ; (b) Young D.H., Kauss H., *Plant. Physiol.*, **1983**, 73, 698–702 ; (c) Helander I. M., Nurmiho-Lassila E. L., Ahvenainen R., Rhoades J., Roller S., *Int. Jour. Food Microbiol.*, **2001**, 71, 235–244; (d) Lim S. H., Hudson S. M., *Carbohydr. Res.*, **2004**, 339, 313–319.

^[28] (a) Zheng L. Y., Zhu J. F., Sun K. S., *Mater. Sci. Eng.*, **2000**, 18, 22–24 ; (b) Liu H., Du Y., Yang J., Zhu H., *Carbohydr. Polym.*, **2004**, 55, 291–297.

^[29] Hadwiger L.A., Kendra D.F., Fristensky B.W., *Chit. Nat. Technol. N.Y. : Plenum Press*, **1985**, 210.

^[30] Zheng L. Y., Zhu J. F., *Carbohydr. Polym.*, **2003**, 54, 527–530.

^[31] El-Tahlawy K.F., El-Bendary M.A., Elhendawy A.G., Hudson S.M., *Carbohydr. Polym.*, **2005**, 60, 421-430.

tétracarboxylique). Ces surfaces élaborées ont montré une activité antibactérienne (*B. subtilis*, *B. cereus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* et *S. aureus*) et antifongique (*C. albicans*), durable et permanente.

Liu et coll.^[32] ont développé la fonctionnalisation de la cellulose par le chitosan utilisant comme agent de greffage le couple poly N-isopropylacrylamide/polyuréthane (PNIPAAm/PU), fixé par polymérisation radicalaire (figure 18). Une activité antibactérienne similaire a été observé sur *E. coli* et *S. aureus*.

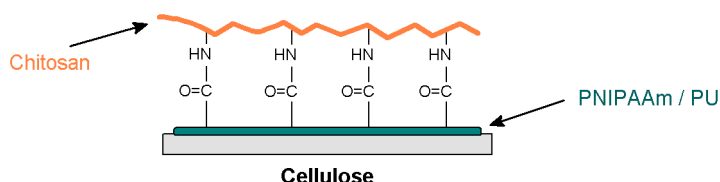


Figure 18 : Dérivatisation de la cellulose par le chitosan via poly N-isopropylacrylamide/polyuréthane (PNIPAAm/PU).^[32]

Utilisant la polymérisation radicalaire (largement employée pour fixer des actifs antibactériens sur des supports polymériques), Nasr et coll.^[33] ont développé la synthèse de terpolymère, sous forme d'émulsion, à base de styrène, butyl acrylate et glycidyl méthacrylate dont la structure est donnée sur la figure 19.

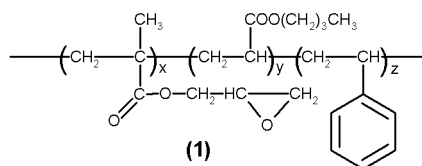


Figure 19 : Terpolymère à base de styrène, butyl acrylate et glycidyl méthacrylate.^[33]

Le résultat de la réaction mettant en jeu l'émulsion de terpolymère latex (1), le coton cellulosique, le chitosan et le polyéthylèneglycol (PEG) est suggéré sur la figure 20. Ce greffage original du chitosan a permis l'élaboration de nouvelles fibres antibactériennes présentant une bonne activité sur *E. coli* et s'avérant efficace dans la protection aux radiations UV.

^[32] Liu B., Hu J., Meng Q., J. Biomed. Mater. Res. Part B: Appl. Biomater., **2009**, 89B, 1-8.

^[33] Nasr H.E., Sayyah S.M., Essa D.M., Samaha S.H., Rabie A.M., *Carbohydr. Polym.*, **2009**, 76, 36-45.

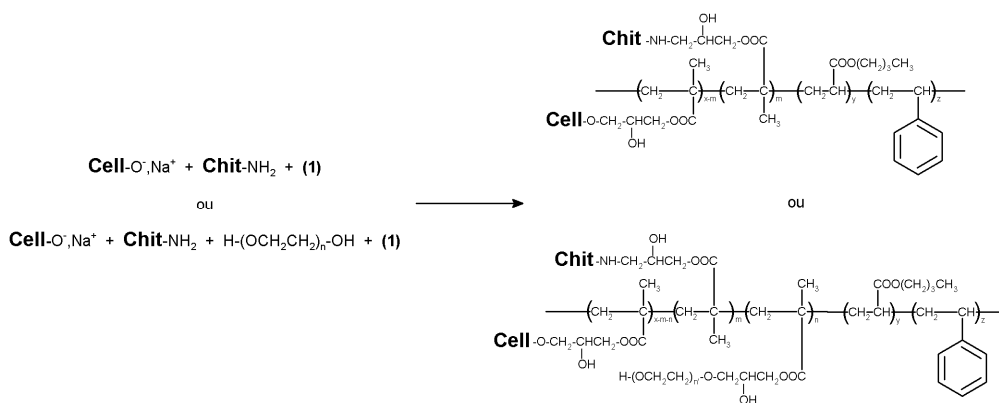


Figure 20 : Utilisation du système terpolymère de latex/PEG pour la fixation du chitosan sur des fibres cellulosiques.^[33]

Une nouvelle voie de fixation a également fait l'objet d'un intérêt tout particulier. En effet, Alonso et coll.^[34] ont étudié le greffage du chitosan sur des fibres cellulosiques mettant en jeu une technique physique non toxique, l'irradiation UV et utilisant l'acide citrique comme agent de greffage. Le mécanisme proposé est représenté sur la figure 21. Ces surfaces fonctionnalisées de coton ont démontré d'excellentes propriétés antibactériennes sur *E. coli* et de remarquables propriétés antifongiques (*P. chrysogenum*).

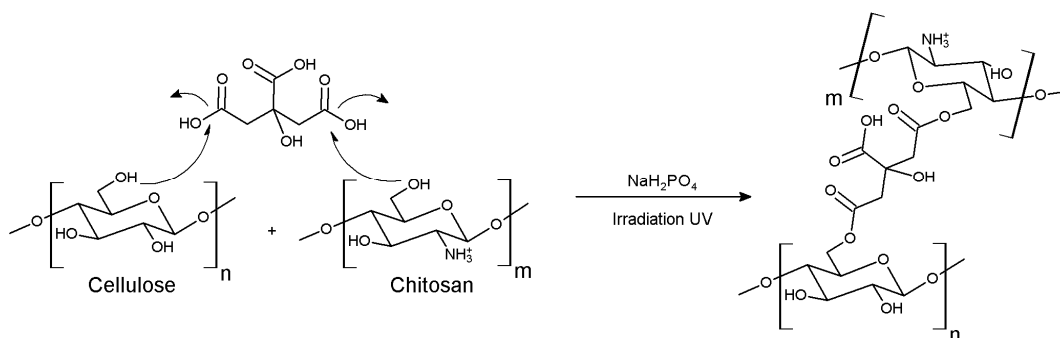


Figure 21 : Greffage du chitosan sur la cellulose utilisant acide citrique, NaH_2PO_4 et irradiation UV.^[34]

2-5- Les antibiotiques

Depuis plus de soixante ans, les antibiotiques sont largement répandus dans le milieu médical pour la lutte contre les infections bactériennes. Il existe plus de 10 000 molécules antibiotiques mais seule une centaine est efficace et utilisable en thérapeutique. La plupart des antibiotiques sont produits par les procaryotes (notamment les actinomycètes), les champignons (17 % des antibiotiques), les végétaux supérieurs ou les animaux mais aussi par les lichens. Cependant, la synthèse de certains de ces composés a ouvert une nouvelle voie dans la lutte contre de nombreuses maladies, qualifiées d'incurables auparavant.

^[34] Alonso D., Gimeno M., Olayo R., Vasquez-Torres H., Sepulveda-Sanchez J.D., Shirai K., *Carbohydr. Polym.*, **2009**, 77, 536-543.

Leur classification a été établie selon leur nature chimique, étroitement liée à leur mode d'action, qui est d'ailleurs bien connu :

- action sur la paroi bactérienne en bloquant la synthèse de celle-ci (cas des β -lactames comme les pénicillines et céphalosporines).
- action sur la membrane cellulaire en agissant avec les lipides membranaires causant la désorganisation de la bicouche phospholipidique membranaire (cas des polymyxines).
- action sur l'ADN en empêchant sa réplication (cas des sulfamides et des quinolones).
- action sur le ribosome bactérien interagissant sur l'ARN ribosomique, bloquant ainsi la synthèse des protéines bactériennes (cas des aminosides, des phénicols, des cyclines ou encore des macrolides).

L'utilisation d'antibiotiques dans certaines infections peut entraîner l'apparition de phénomènes de résistances (émergence de bactéries multi-résistantes) mais aussi la présence de nombreux effets indésirables (réactions allergiques, troubles digestifs, toxicité rénale ou sanguine par exemple). L'équipe de Cassano^[35] a développé la fixation d'un antibiotique de type β -lactame, plus précisément l'ampicilline, sur des fibres celluloseuses tel que le coton. La figure 22 représente la structure obtenue après estérification de l'ampicilline sur la cellulose. Les résultats préliminaires ont montré une activité antibactérienne vis-à-vis de la souche *S. faecalis*.

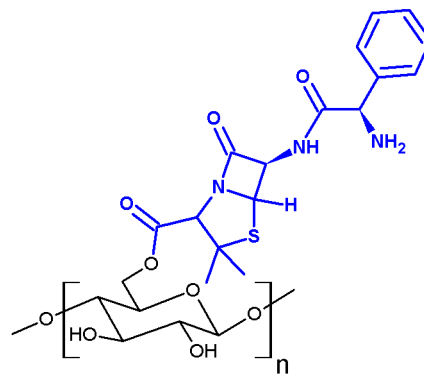


Figure 22 : Coton modifié par l'ampicilline à propriété antibactérienne.^[35]

2-6- L'argent et autres métaux

Les propriétés antibactériennes de l'argent sont connues depuis l'antiquité. A cet effet, il a été utilisé pour la purification de l'eau. Ce métal est connu pour avoir un large spectre d'inactivation bactérienne mais peut être également actif sur des champignons et virus à partir de certaines concentrations. Le mode d'action des ions Ag^+ est très bien connu ; des taux micromolaires d'ions Ag^+ inhibent les enzymes de la chaîne respiratoire ou interfèrent dans la perméabilité membranaire

^[35] Cassano R., Trombino S., Ferrarelli T., Muzzalupo R., Tavano L., Picci N., *Carbohydr. Polym.*, **2009**, 78, 639-641.

notamment des protons et des phosphates, au niveau de la cellule bactérienne conduisant à la mort de la bactérie.

A de plus fortes concentrations, des études ont montré que ces ions interagissent avec les constituants intracellulaires et les acides nucléiques.^[36] Récemment une nouvelle forme d'argent a émergé avec le développement des nanosciences, il s'agit des nanoparticules d'argent où le métal est sous forme Ag⁰.

De nombreuses études reportent l'élaboration de nanoparticules d'argent à propriétés antibactériennes.^[37] Plusieurs exemples de surfaces celluloses (essentiellement les textiles de coton) antibactériennes fonctionnalisées avec des nanoparticules d'argent, des sels d'argent sont retrouvées dans la littérature.^[38, 39] D'autres métaux comme le cuivre, le zinc, le cobalt ou encore le titane souvent utilisés sous forme d'oxyde sont également des agents antimicrobiens efficaces ; ces différents métaux ont contribué au développement de matériaux celluloses antimicrobiens et ont fait l'objet de publications et brevets.^[40]

2-7- Les photosensibilisateurs

Les molécules photosensibilisatrices représentent une autre classe de composés antibactériens (figure 23). Les dérivés phénothiazinium (bleu de toluidine O, bleu de méthylène, vert de méthylène), les dérivés de la fluorescéine (rose de Bengale) ou encore les macrocycles tétrapyrroliques (phtalocyanines, porphyrines) sont les plus connus et leurs propriétés antibactériennes ne sont plus à démontrer.^[41]

^[36] (a) Bragg P.D., Rainnie D.J., *Can. J. Microbiol.*, **1974**, 228, 883-889 ; (b) Schreurs W.J., Rosenberg H., *J. Bacteriol.*, **1982**, 152, 7-13 ; (c) Semeykina A.L., Skulachev V.P., *FEBS Lett.*, **1990**, 269, 69-72 (d) Ghandour W., Hubbard J.A., Deistung J., Hughes M.N., Poole R.K., *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **1994**, 28, 559-565 ; (e) Feng Q.L., Wu J.L., Chen G.Q., Cui F.Z., Kim T.N., Kim J.O., *J. Biomed. Mater. Res.*, **2000**, 52, 662-668 ; (f) Dibrov P., Dzioba J., Gosink K.K., Hase C.C., *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2002**, 46, 2668-2670 ; (g) Bard A.J., Holt K.B., *Biochemistry*, **2005**, 44, 13214-13223.

^[37] (a) Aymonier C., Schlotterbeck U., Antonietti L., Zacharias P., Thomann R., Tiller J.C., Mecking S., *Chem. Commun.*, **2002**, 8, 3018-3019 ; (b) Sondi I., Salopek-Sondi B., *J. Colloid Interface Sci.*, **2004**, 275, 177-182 ; (c) Alt V., Bechert T., Steinrucke P., Wagener M., Seidel P., Dingeldein E., Domman E., Schnettler R., *Biomaterials*, **2004**, 25, 4383-4391 ; (d) Baker C., Pradhan A., Pakstis L., Pochan D.J., Shah S.I., *J. Nanosci. Nanotechnol.*, **2005**, 5, 244-249 ; (e) Melaiye A., Sun Z., Hindi K., Milsted A., Ely D., Reneker D.H., Tessier C.A., Youngs W.J., *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, 127, 2285-2291 ; (f) Lok C.N., Ho C.M., Chen R., He Q.Y., Yu W.Y., Sun H., Tam P.K., Chiu J.F., Che C.M., *J. Proteome Res.*, **2006**, 5, 916-924 ; (g) Drogat N., Granet R., Sol V., Memmi A., Saad N., Klein Koerkamp C., Bressollier P., Krausz P., *J. Nanopart. Res.*, 2010, sous presse.

^[38] (a) Lee H.J., Yeo S.Y., Jeong S.H., *J. Mater. Sci.*, **2003**, 38, 2199-2204 ; (b) Hipler U.-C., Elsner P., Fluhr J.W., *J. Biomed. Res. Part B : Appl. Biomater.*, **2006**, 77B, 156-163 ; (c) Chen C.-Y., Chiang C.-L., *Mater. Lett.*, **2008**, 62, 3607-3609 ; (d) Faletta E., Bonini M., Fratini E., Lo Nostro A., Pesavento G., Becheri A., Lo Nostro P., Canton P., Baglioni P., *J. Phys. Chem. C*, **2008**, 112, 11758-11766 ; (e) Tankhiwale R., Bajpai S.K., *Colloid. Surface B*, **2009**, 69, 164-168.

^[39] Tomšič B., Simončič B., Orel B., Žerjav M., Schroers H., Simončič A., Samardžija Z., *Carboh. Polym.*, **2009**, 75, 618-626.

^[40] (a) Antelman M.S., United States, Patent no 6,228,491, **2001** ; (b) Daoud W., Xin J.H., Zhang Y.-H., *Surf. Sci.*, **2005**, 599, 69-75 ; (c) Yadav A., Prasad V., Kathe A.A., Raj S., Yadav D., Sundaramoorthy C., Vigneshwaran N., *Bull. Mater. Sci.*, **2006**, 29, 641-645 ; (d) Charbonneaux T., Rochat S., United States, Patent no 20060208390, **2006** ; (e) Perelshtein I., Applerot G., Perkas N., Wehrschetz-Sigl E., Hasman A., Guebitz G.M., Gedanken A., *Appl. Mat. Inter.*, **2009**, 2, 361-366.

^[41] (a) Devanathan S., Dahl T.A., Midden W.R., Neckers D.C., *P. Natl. Acad. Sci. USA*, **1990**, 87, 2980-2984 ; (b) Wilson M., *Int. Dent. J.*, **1994**, 44, 181-189 ; (c) Wainwright M., Phoenix D.A., Marland J., Wareing D.R.A., Bolton F.J., *FEMS Immunol. Med. Mic.*, **1997**, 19, 75-80.

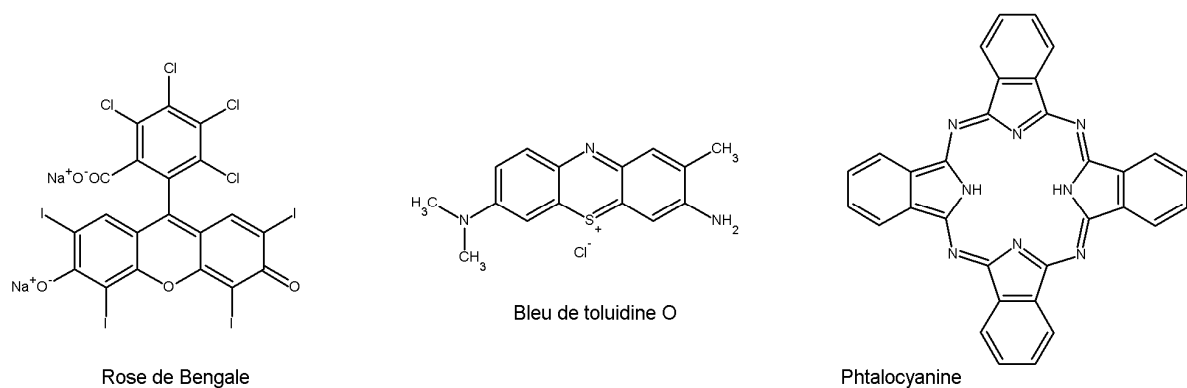


Figure 23 : Exemples de photosensibilisateurs.

Ces agents ont la particularité de produire des espèces réactives (radicaux libres et/ou oxygène singulet) très toxique pour toutes cellules vivantes sous l'action de la lumière visible. Cependant, seul le rose de Bengale et le bleu de toluidine O ont été utilisés afin d'élaborer des surfaces celluloses photoactivables. A cet effet, des films d'acétate de cellulose contenant les photosensibilisateurs ont montré d'excellentes propriétés biologiques, avec des temps d'illumination variables, sur *S. aureus*, *S. aureus* méthicilline-résistant (MRSA), *C. difficile*, *C. albicans*, bactériophage Φ X74 et *E. coli*.^[42]

Les photosensibilisateurs les plus répandus, à propriétés antibactériennes, sont les macrocycles tétrapyrroliques tels que les porphyrines. Une mise au point bibliographique de ces macrocycles, leurs dérivés ainsi que leurs applications (comme la photothérapie dynamique antibactérienne) sera présentée dans le chapitre suivant.

3- Les porphyrines : agent photobactéricide

3-1- Structure

Les porphyrines sont des macrocycles fortement conjugués constitués de quatre unités pyrroliques liées entre elles par un pont méthine. L'aromaticité (18 électrons π) leur confère une stabilité importante et une forte absorption dans le visible. En outre, ces structures hétérocycliques se comportent comme des diacides ou des dibases, et peuvent être métallées par presque tous les métaux. Dans le premier cas, la molécule est dite base "libre", dans le second cas, elle est dite "métallée". La réduction d'une double liaison pyrrolique conduit alors à la formation de chlorines possédant trois noyaux pyrroliques et une unité pyrrolidine. Lorsque deux doubles liaisons sont réduites sur la porphyrine, on parle alors de bactérochlorines ou d'isobactérochlorines (figure 24).

^[42] (a) Decraene V., Pratten J., Wilson M., *Appl. Environ. Microb.*, **2006**, 72, 4436-4439; (b) Decraene V., Pratten J., Wilson M., *Curr. Microbiol.*, **2008**, 57, 269-273.

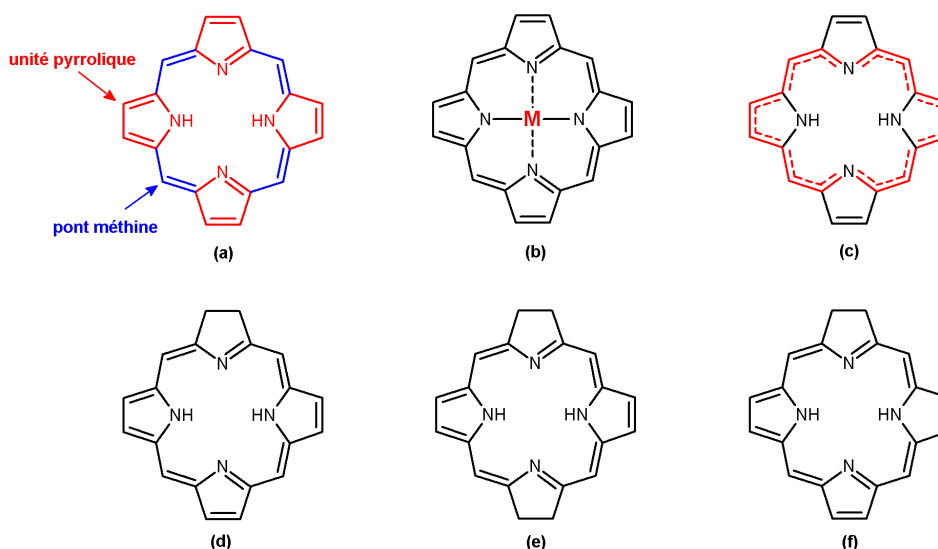


Figure 24 : (a) Porphyrine base libre ; (b) Porphyrine base métallée ; (c) Représentation du système de 18 électrons π aromatiques ; (d) Chlorine ; (e) Bactérochlorine ; (f) Isobactérochlorine.

Dans les années 1930, le chimiste allemand Fischer^[43] a proposé pour la première fois un système de nomenclature pour désigner les porphyrines substituées sur les positions β -pyrroliques (figure 25b). Les atomes de carbone des positions méthines, aussi appelés "mésos", sont numérotés α , β , γ et δ , et les carbones β -pyrroliques sont notés 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 et 8.

La complexité des porphyrines synthétisées augmentant, une numérotation systématique du macrocycle a été adoptée en 1987 afin de simplifier la nomenclature de ces molécules.^[44] Les carbones *mésos* portent alors les numéros 5, 10, 15, 20, les positions α et β des cycles pyrroliques sont notées respectivement 1, 4, 6, 9, 11, 14, 16, 19 et 2, 3, 7, 8, 12, 13, 17, 18 et enfin les numéros 21, 22, 23, 24 ont été attribués aux quatre atomes d'azote (figure 25c).

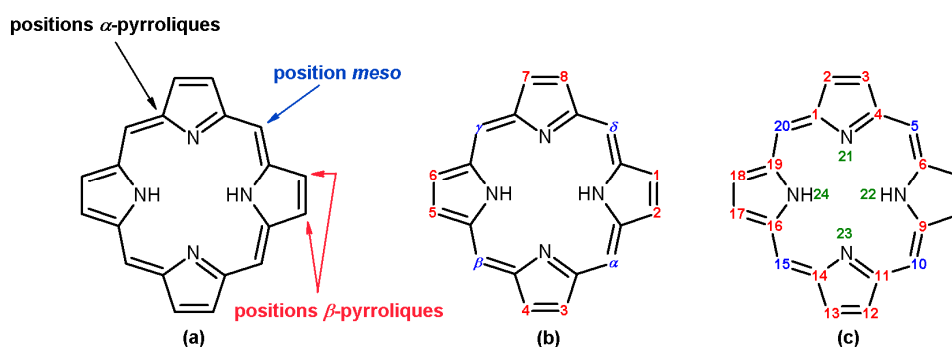


Figure 25 : Nomenclature et numérotation des porphyrines.
(a) appellation générale ; (b) nomenclature de Fischer ; (c) nomenclature systématique d'une porphyrine.

^[43] Fischer H., Orth H., *Die Chemie des Pyrrols*, vol. I-III, 1934.

^[44] Dixon H.B.F., Cornish-Bowden A., Liebecq C., Loening K.L., Moss G.P., Reedijk J., Velick S.F., Venetianer P., Vliegthart J.F.G., *Pure Appl. Chem.*, 1987, 59, 779-832.

Le macrocycle porphyrinique, structure de géométrie normalement plane, est flexible et peut adopter dans certains cas des conformations non planes. De telles distorsions peuvent être engendrées par la protonation des deux atomes d'azote non hydrogénés, la présence de groupements volumineux en position *méso*, la substitution des positions β -pyrroliques ou encore par la métallation.^[45] Ainsi, la présence d'un petit ion métallique tel que le Ni(II) engendre la distorsion du cycle (figure 26).

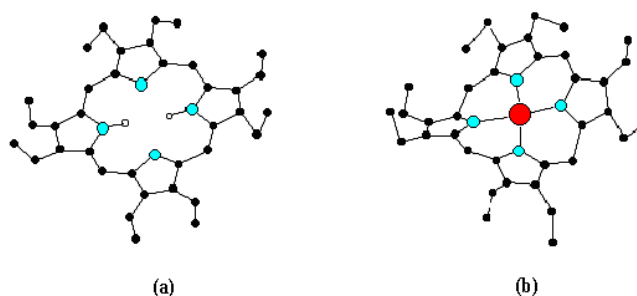


Figure 26 : (a) octaéthylporphyrine base libre plane ; (b) octaéthylporphyrine de Nickel non plane (Ruffled).^[46]

Les macrocycles tétrapyrroliques sont très largement présents dans les milieux vivants. Ils sont métallés et généralement associés à des protéines. Ces molécules participent à des processus naturels d'oxydoréduction thermiques ou photo-thermiques. La figure 27 présente quelques exemples de tels pigments naturels (porphyrines ou macrocycles dérivés) choisis parmi les plus représentatifs.

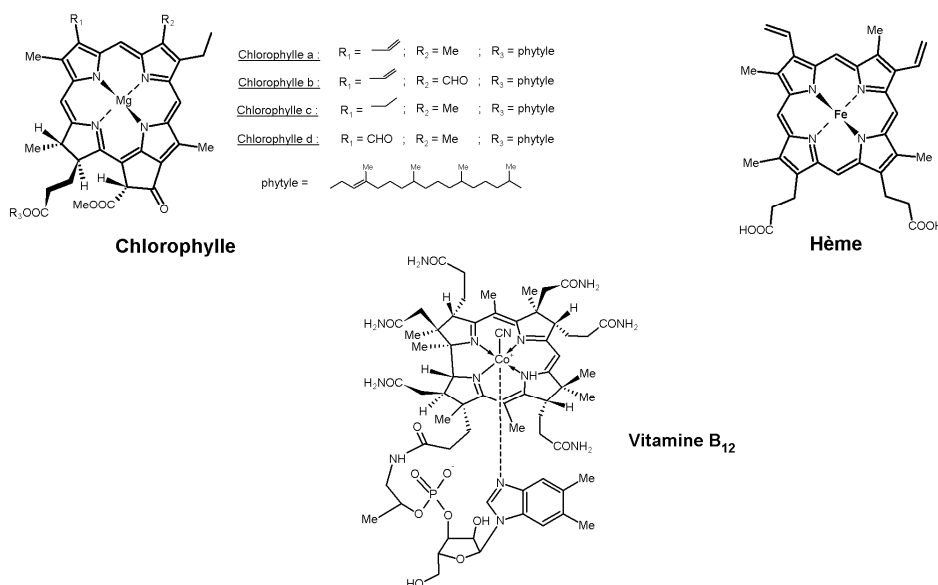


Figure 27 : Exemples de macrocycles tétrapyrroliques naturels.

Dans le monde animal, le transport des gaz respiratoires (O_2 , CO_2) est assuré par l'hémoglobine,^[47] protéine dont le groupe prosthétique est une porphyrine, la protoporphyrine IX

^[45] Jentzen W., Simpson M.C., Hobbs J.D., Song X., Ema T., Nelson N.Y., Medforth C.J., Smith K.M., Veyrat M., Mazzanti M., Ramasseul R., Marchon J-C., Takeuchi T., Goddard W.A., Shelmutt J.A., *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, 117, 11085-11097.

^[46] Meyer E.F., *Acta Crystallogr., Sect. B: Struct. Sci.*, **1972**, B28, 2162-2167.

^[47] Perutz M., *Pour la science*, **1979**, 16, 71-85.

métallée par du fer (II) qui porte le nom d'hème. La myoglobine, protéine de structure très proche de celle de l'hémoglobine possédant également l'hème comme groupe prosthétique, participe au stockage de l'oxygène dans les tissus musculaires ainsi qu'à son transport vers les mitochondries. Les cytochromes constituent une autre classe de métalloprotéines construites autour d'un noyau héminique. Les cytochromes de la chaîne respiratoire, comme le cytochrome *c* par exemple, jouent le rôle de transporteurs d'électrons lors du processus de respiration cellulaire. Le cytochrome P450, métabolise des composés xénobiotiques (substance possédant des propriétés toxiques) en catalysant leur oxydation ou leur réduction.^[48] Nous pouvons également citer, comme exemple de macrocycles tétrapyrroliques naturels, la vitamine B₁₂ dont la structure est celle d'une corrine métallée par un atome de cobalt pouvant se trouver à divers degrés d'oxydation.

Chez les végétaux, les noyaux porphyriniques et leurs dérivés sont retrouvés dans différentes molécules telle que la chlorophylle, pigment présent dans toutes les plantes vertes. Ce que l'on nomme couramment "chlorophylle" est en réalité un mélange de plusieurs molécules de structures chimiques très proches. On distingue ainsi les chlorophylles a, b, c et d ainsi que quelques dérivés apparentés comme les bactériochlorophylles. Les chlorophylles sont des macrocycles qui, par absorption de photons puis par transfert d'énergie, sont à l'origine de la photosynthèse. Ce sont des molécules dont le squelette de base est celui d'un noyau de chlorine possédant une chaîne carbonée à sa périphérie et au centre duquel est complexé un ion magnésium.

Enfin, les analogues de porphyrines appelés également "porphyrinoïdes" sont illustrés sur la figure 28. Il s'agit de corroles, de corrines, de porphyrines "N-confusent", d'hétéroporphyrines et l'ensemble des macrocycliques apparentés de plus grande taille ; certains incluant jusqu'à 16 unités pyrroliques, les hexadécaphyrines.^[49]

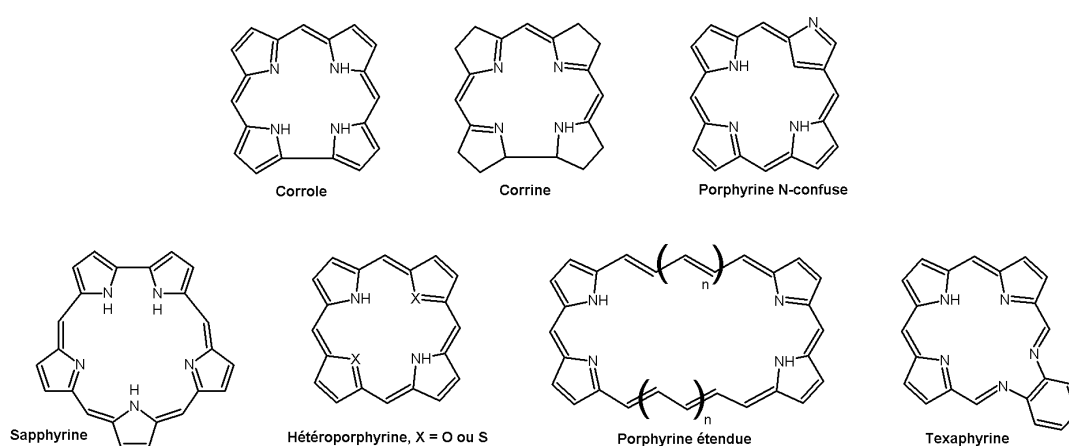


Figure 28 : Dérivés de porphyrine.

^[48] Milgrom L.R., *The Colors of Life : an Introduction to the Chemistry of Porphyrins and Related Compounds*, Oxford Univ Press, UK, **1997**, 249-260.

^[49] Sessler J.L., Seidel D., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2003**, 42, 5134.

3-2- Propriétés spectrales

3-2-1- Spectroscopie UV-Visible

Afin d'évoquer leur très forte coloration, les macrocycles tétrapyrroliques ont été nommés "porphyrines", du grec "*porphura*" (pourpre). L'intense coloration des porphyrines provient de leur système fortement conjugué à 18 électrons π , ces molécules absorbent dans le domaine du visible et présentent un spectre d'absorption très caractéristique résultant de transitions $\pi \rightarrow \pi^*$ et qui est fonction de la structure et de la présence ou non d'un métal. Le spectre UV-visible des porphyrines se compose d'une bande intense ($\epsilon > 10^5 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) entre 390 et 430 nm (proche UV) appelée bande de Soret ou bande B et de quatre bandes de moindre intensité aux plus grandes longueurs d'ondes (entre 500 et 680 nm) nommées bandes Q (figure 29).

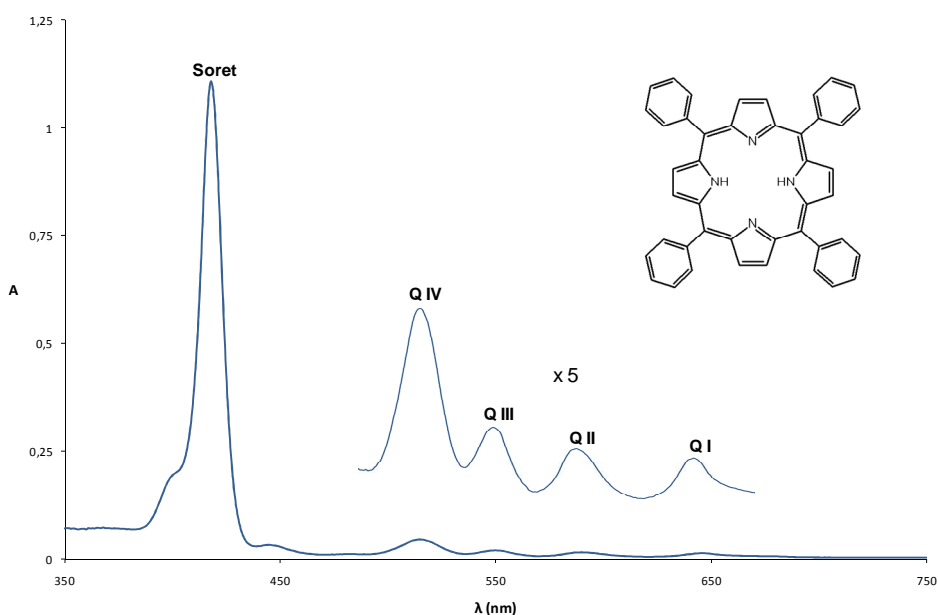


Figure 29 : Spectre UV-visible caractéristique d'une porphyrine base "libre" : la H_2TPP (dans CHCl_3).

La région du spectre située dans le domaine du visible, généralement sensible aux variations de structure, renseigne sur la substitution du macrocycle. En effet, les quatre bandes Q, numérotées de I à IV en partant des énergies les plus basses, voient leurs intensités relatives varier notablement en fonction de la nature et de la position des substituants.^[50] Quatre types de spectre se distinguent et sont appelés : *étio*, *rhodo*, *oxorhodo* et *phyllo* (figure 30).^[51]

^[50] Gouterman M., *J. Mol. Spectrosc.*, **1961**, 6, 138-163.

^[51] Smith K.M., *Porphyrins and Metalloporphyrins*, **1975**, p 910, Elsevier Amsterdam.

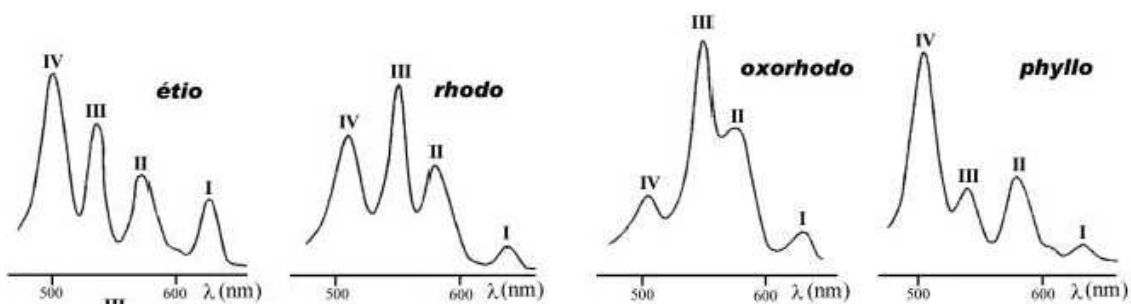


Figure 30 : Profil des bandes Q pour les quatre principaux types de spectres d'absorption de porphyrines bases libres.

Le type *étio* est principalement rencontré dans le cas de porphyrines β -substituées par au moins 6 groupements, ou dans le cas de la plupart des *méso*-arylporphyrines. Si ces dernières portent un substituant saturé (par exemple une chaîne alkyle) à la place de l'aryle, elles auront généralement un spectre de type *phyllo*. La présence de groupements riches en électrons π (carbonyl...) en position β -pyrrolique génère un profil de spectre de type *rhodo*, alors que la présence de deux de ces mêmes groupements en position β -pyrrolique sur deux pyrroles opposés conduit plutôt à un spectre de type *oxorhodo*. Dans le cas des porphyrines métallées ou protonées, la présence de la bande de Soret est toujours observée mais les intensités relatives des bandes Q sont fonction de la nature du métal et de son degré d'oxydation. Ces dernières sont nommées α et β en partant des grandes longueurs d'onde (figure 31).

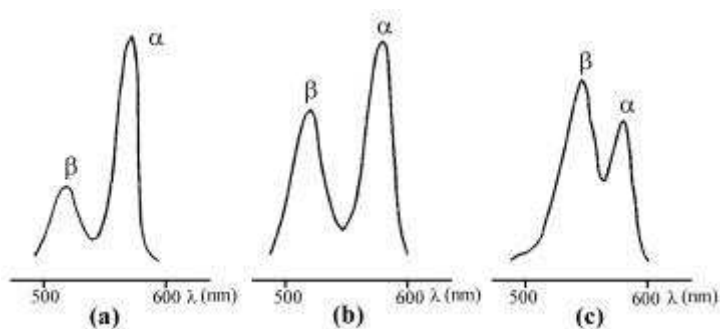


Figure 31 : Bandes Q de spectre d'absorption d'octaéthylporphyrines métallées par, (a) Ni(II) ; (b) Pd(II) ; (c) Cd(II).

3-2-2- Résonance magnétique nucléaire

Depuis les premiers travaux de Becker et coll.,^[52] l'étude de la résonance magnétique nucléaire (RMN) des porphyrines a fait l'objet d'un grand nombre de publications.

^[52] Becker E.D., Bradley R.B., *J. Chem. Phys.*, **1959**, 31, 1413-1414.

3-2-2-1- Spectroscopie RMN du proton

Comme tous les composés aromatiques, les porphyrines possèdent un courant de cycle important affectant ainsi l'ensemble des protons du macrocycle. La résonance magnétique nucléaire du proton (RMN ^1H) appliquée aux macrocycles porphyriniques fournit des spectres très caractéristiques. En effet, le courant de cycle généré par le champ magnétique (imposé par l'appareil) induit un important cône d'anisotropie magnétique dont l'axe est perpendiculaire au plan du macrocycle (figure 32). Ainsi, les protons à l'intérieur de ce cône sont blindés alors que les protons situés à l'extérieur, dans le plan de la molécule, sont fortement déblindés. Le spectre RMN est alors étendu sur une large zone de plus de 15 ppm.^[53]

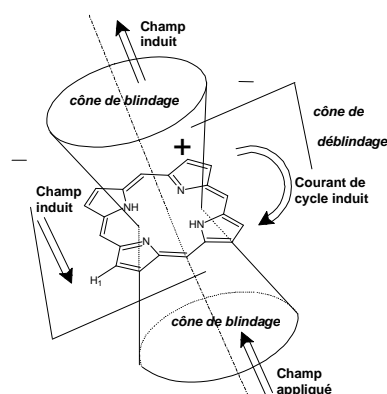


Figure 32 : Cône d'anisotropie magnétique d'une porphyrine.

Le spectre RMN ^1H de la porphine (porphyrine sans aucun substituant), est constitué de 3 singulets à -3,76 ; 9,74 et 10,50 ppm. Ces signaux sont attribués respectivement aux protons liés aux atomes d'azote, aux protons des positions β -pyrroliques et aux protons méthine (position *méso*). Puisque ces derniers sont liés à des carbones essentiellement déficients en électrons, ils sont plus déblindés que les protons β -pyrroliques. De plus l'unicité des signaux des protons β -pyrroliques s'explique par la tautomérie des protons NH internes (figure 33).

^[53] Craig J.M., *The Porphyrins Handbook*, vol. 5, Ed. Kadish K.M., Smith K.M., Guillard R., 1999.

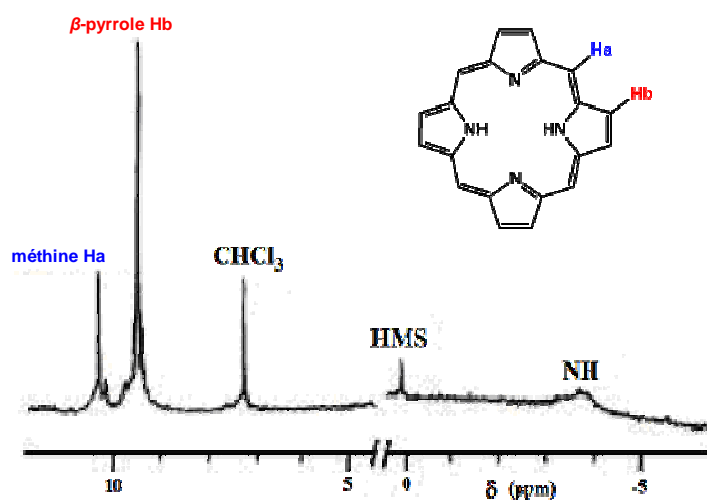


Figure 33 : Spectre RMN ^1H de la porphine dans CDCl_3 .

Dans le cas de porphyrines *méso*-substituées, les substituants affectent davantage les déplacements chimiques des protons du macrocycle que dans le cas de porphyrines β -substituées. Il y a un blindage des protons périphériques et un déblindage des protons internes dus à une diminution du courant de cycle. L'introduction d'un métal modifie également sensiblement le spectre. On observe ainsi des variations de déplacements chimiques des protons périphériques (β -pyrroliques ou *méso*) selon la nature, le degré d'oxydation du métal.

3-2-2-2- Spectroscopie RMN du carbone

Le spectre RMN du carbone (RMN ^{13}C) du macrocycle porphyrinique se compose de trois zones ; les carbones *méso* qui résonnent entre 95 et 120 ppm, les carbones β -pyrroliques vers 130 ppm et les carbones α -pyrroliques vers 145 ppm.

Le signal correspondant aux carbones α -pyrroliques est généralement élargi et assez mal défini. Ceci est la conséquence directe de la tautomérie des protons NH internes. Ce phénomène peut également affecter dans certains cas la forme des signaux des carbones β -pyrroliques. Un abaissement de température (-60°C) permet de ralentir la tautomérie et à cette température on observe pour les carbones α -pyrroliques deux pics correspondant chacun à quatre carbones.^[54] Notons par ailleurs qu'en RMN ^{13}C , la résonance des noyaux est relativement peu sensible aux courants de cycle.

3-2-3- Spectrométrie de masse MALDI et ESI

Les porphyrines étant très faiblement volatiles, les techniques classiques d'ionisation ne sont généralement pas adaptées. Il est nécessaire d'utiliser les méthodes de désorption directe comme le MALDI (désorption-ionisation laser assisté par matrice) dont le principe est illustré sur la figure 34.

^[54] Abraham R.J., Hawkes G.E., Hudson M.F., Smith K.M., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **1975**, 3, 204-211.

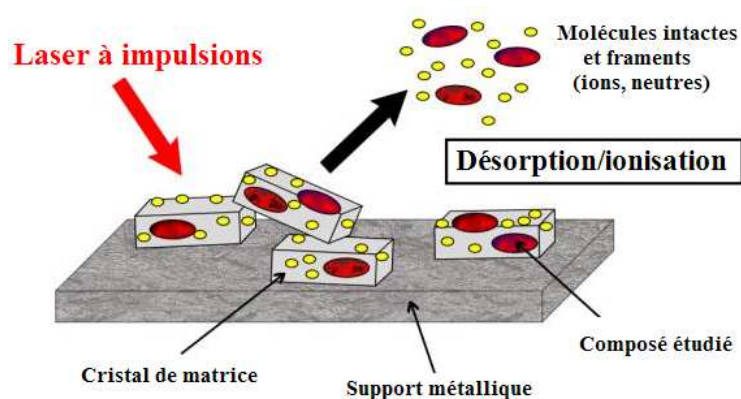


Figure 34 : Principe de la technique MALDI.^[55]

La technique MALDI permet le passage en phase gazeuse de molécules ionisées intactes à hauts poids moléculaires. Le produit à analyser, mélangé à une matrice, est adsorbé sur un support métallique. Le dépôt est ensuite irradié par des impulsions lasers courtes (quelques nanosecondes) dont la longueur d'onde correspond à une bande d'absorption de la matrice. L'énergie délivrée par le laser est absorbée de manière sélective par la matrice conduisant à un phénomène de désorption et d'ionisation. Une faible partie de l'énergie absorbée est transmise sous forme d'énergie cinétique et d'énergie interne à la substance analysée ce qui provoque l'éjection d'espèces moléculaires essentiellement intactes. Les ions produits sont généralement $[M+H]^+$, $[M-H]^+$ ou peuvent être issus de processus de cationisation $[M+Li]^+$, $[M+Na]^+$, $[M+K]^+$. La nature de la matrice est importante. En effet, elle doit être soluble dans les mêmes solvants que la substance étudiée de façon à obtenir un dépôt homogène. En outre, elle doit présenter une forte absorption à la longueur d'onde du laser. Même si l'acide α -cyano-4-hydroxycinnamique (HCCA) est une matrice couramment employée pour l'étude des porphyrines, il existe cependant une gamme assez étendue de composés pouvant être utilisée comme matrice en fonction des caractéristiques des porphyrines étudiées.^[56]

Le mode ESI (ionisation par électrospray) est, lui aussi, utilisé pour de telles structures et permet d'obtenir l'ion moléculaire. L'ionisation par électrospray consiste à introduire une solution d'échantillon dans un capillaire soumis à un haut potentiel électrique. Les ions formés sous pression atmosphérique sont alors canalisés dans un ensemble d'échantillonneurs vers l'analyseur où règne un vide poussé.

3-3- Méthodes de synthèse

Compte tenu du vaste éventail d'applications des macrocycles tétrapyrroliques, la méthodologie de synthèse de ces structures ou de leurs analogues a connu un grand développement

^[55] Rusconi F., Schmitter J.M., *Analisis Magazine*, **1998**, 26, 13-17.

^[56] Karas M., Bachmann D., Bahr U., Hillenkamp F., *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes*, **1987**, 78, 53-68.

depuis plus d'un demi-siècle. Nous nous proposons dans ce qui suit de faire un bref inventaire de ces méthodes d'élaboration.

3-3-1- Synthèse de *méso*-porphyrines

3-3-1-1- Condensation de pyrrole sur des aldéhydes

En 1935, Rothemund ^[57] décrit pour la première fois la synthèse d'une porphyrine symétrique substituée en position *méso*. En faisant réagir, sous atmosphère d'azote, l'éthanal et le pyrrole dans le méthanol à diverses températures, il a obtenu, avec de très faibles rendements, la *méso*-tétraméthylporphyrine. Dans les mêmes conditions opératoires, en utilisant différents aldéhydes, il a synthétisé diverses porphyrines portant comme substituants des groupes propyle, butyle, phényle ou encore 4-méthoxyphényle. En 1941, Rothemund ^[58] améliore les très faibles rendements obtenus jusqu'alors. Ainsi, après réaction dans une ampoule scellée, du pyrrole et du benzaldéhyde dans la pyridine à 220°C, il a obtenu la *méso*-tétraphénylporphyrine avec un rendement de l'ordre de 5% (figure 35).

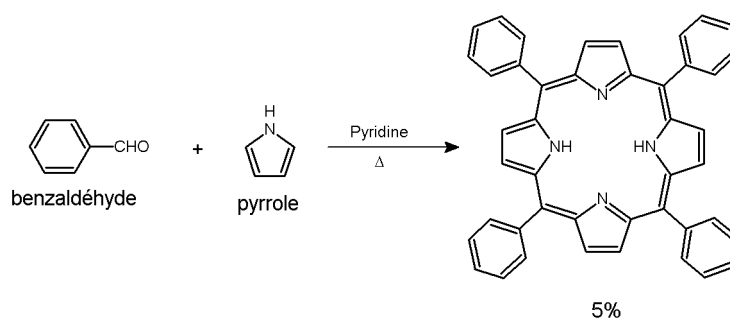


Figure 35 : Méthode de Rothemund appliquée à la synthèse de la *méso*-tétraphénylporphyrine.^[58]

Calvin et coll.^[59] ont montré qu'il était possible dans les mêmes conditions de doubler le rendement en ajoutant au milieu réactionnel de l'acétate de zinc. De cette façon, ils sont parvenus à synthétiser la *méso*-tétraphénylporphyrine métallée avec un rendement de 11%. Ces travaux sont les premiers d'une importante série de publications traitant des effets de la présence de métaux sur ce type de réaction.

En 1967, Adler et Longo ^[60] ont amélioré significativement la synthèse de porphyrines par condensation d'aldéhydes et de pyrrole. En condensant le benzaldéhyde et le pyrrole dans l'acide propionique à reflux dans un réacteur ouvert à l'air libre, ils ont formé la *méso*-tétraphénylporphyrine

^[57] Rothemund P.J., *J. Am. Chem. Soc.*, **1935**, 61, 2912-2915.

^[58] Rothemund P.J., Menotti A.R., *J. Am. Chem. Soc.*, **1941**, 63, 267-270.

^[59] Ball R.H., Dorrough G.D., Calvin M., *J. Am. Chem. Soc.*, **1946**, 68, 2278-2281.

^[60] Adler A.D., Longo F.R., Finarelli J.D., Goldmacher J., Assour J., Korsakoff L., *J. Org. Chem.*, **1967**, 32, 476.

avec un rendement supérieur à 20%. La méthode d'Adler Longo, grâce à ces conditions de réactions plus douces, a permis d'accéder à un éventail beaucoup plus large de *méso*-porphyrines symétriques.

En 1975, Little et coll.^[61] ont adapté cette méthode à la synthèse de *méso*-arylporphyrines substituées. Cette méthode dite des "aldéhydes mixtes" consiste à condenser, dans l'acide propionique à reflux, du pyrrole avec deux aldéhydes différents (figure 36). La stoechiométrie des aldéhydes initiaux permet d'accéder à des porphyrines mono, di ou trisubstituées.

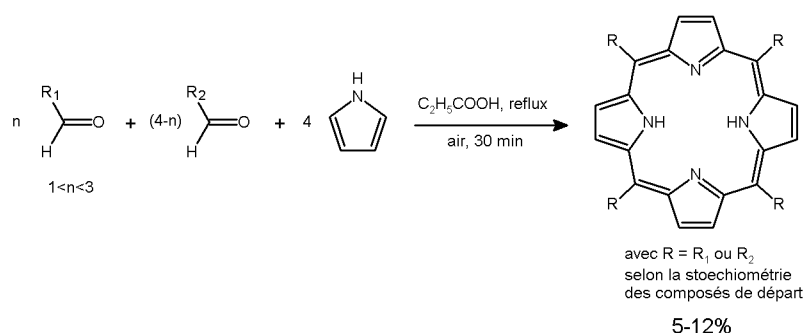


Figure 36 : Méthode des aldéhydes mixtes.

En 1985, Gonsalves et coll.^[62] ont montré qu'un mélange de pyrrole et d'alkylaldéhyde en présence d'acide trifluoroacétique en quantité catalytique conduisait à un porphyrinogène pouvant être oxydé en *méso*-tétraalkylporphyrine avec un bon rendement. En appliquant cette méthode, Lindsey et coll.^[63] ont synthétisé un grand nombre de *méso*-tétraarylporphyrines. Ainsi, en utilisant du dichlorométhane sous courant d'argon et en présence d'acide de Lewis en quantité catalytique, ils ont obtenu, après oxydation par une quinone (2,3-dichloro-5,6-dicyano-*para*-benzoquinone ou DDQ), la tétraphénylporphyrine avec un rendement de 46% (figure 37).

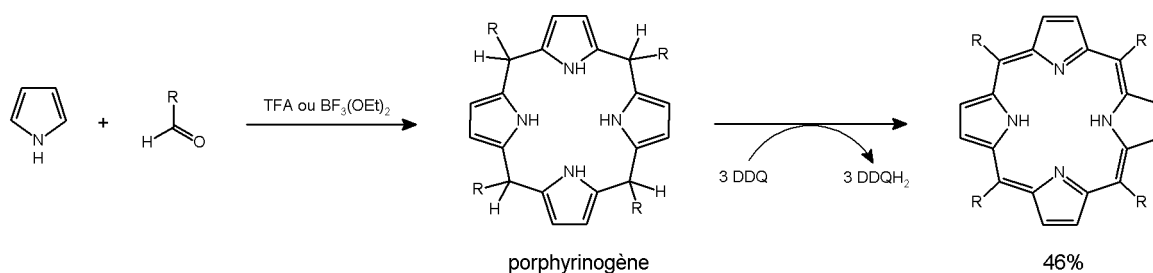


Figure 37 : Méthode de Lindsey.

Depuis 1986, un très grand nombre de porphyrines symétriques a pu être synthétisé suivant ce protocole, les conditions douces de la méthode de Lindsey autorisant aussi l'emploi d'aldéhydes thermiquement peu stables. Les rendements optimaux ont été obtenus pour des concentrations en

^[61] Little R.G., Anton J.A., Loach P.A., Ibers J.A., *J. Heterocycl. Chem.*, **1975**, 12, 343-349.

^[62] Gonsalves A.M.A.R., Pereira M.M., *J. Heterocycl. Chem.*, **1985**, 22, 931-933.

^[63] Lindsey J.S., Hsu H.C., Schreiman I.C., *Tetrahedron Lett.*, **1986**, 27, 4969-4970.

réactifs de l'ordre de 10^{-2} M, c'est à dire en milieu dilué en présence de quantité catalytique d'acide de Lewis (TFA ou $\text{BF}_3\text{-Et}_2\text{O}$).

Une autre approche de synthèse de la *méso*-tétraphénylporphyrine a été étudiée au sein de notre de laboratoire.^[64] Basée sur la méthode de Lindsey, ce système original utilisant l'iode comme catalyseur acide, a la particularité d'employer réactifs et solvants non distillés et de plus repose sur une méthode non conventionnelle, l'activation micro-ondes (figure 38).

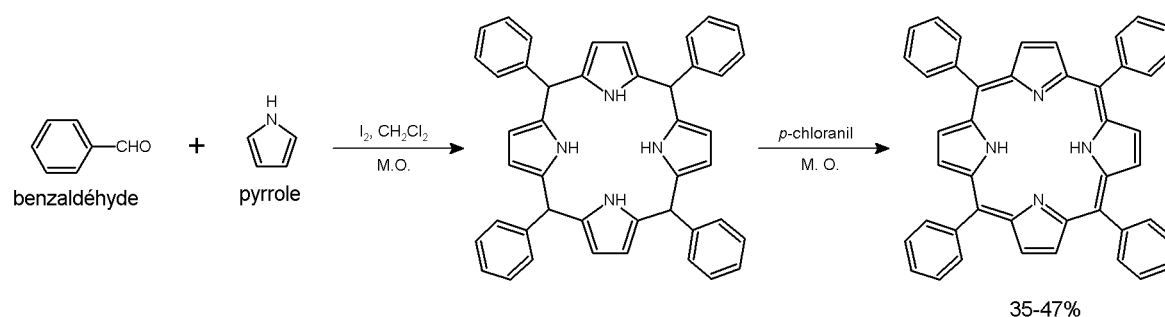


Figure 38 : Synthèse de *méso*-tétraphénylporphyrine assistée par micro-ondes.

La condensation du benzaldéhyde et du pyrrole dans le dichlorométhane, à des fortes concentrations (10^{-1} M), a conduit à des rendements de l'ordre de 27-30%. Ces derniers ont été obtenus pour des taux d'iode compris entre 0,05 et 0,2 équivalents et des activations micro-ondes (30 °C, 100 W) variant de 5 à 8 minutes pour la première et d'une minute pour l'oxydation par le *p*-chloranil. Le meilleur rendement (47%) a été obtenu avec des concentrations en réactifs de 10^{-2} M (conditions de Lindsey) et un taux en iode de 0,02 équivalents ; les conditions d'activation sont identiques mais la première activation nécessite un temps de 20 minutes. Enfin, le meilleur résultat est obtenu pour des concentrations élevées (10^{-1} M) en réactifs, un taux d'iode de 0,2 équivalents et une activation micro-ondes modifiée (35 °C, 300 W). Après seulement 2 minutes de réaction (2 x 1 minute), le rendement obtenu est de 35%. Cette méthode alternative, amenant à de rendements raisonnables (35-47%), représente une évolution certaine de l'aspect fondamental dans la synthèse de macrocycles porphyriniques.

Une dernière méthode de synthèse en absence de solvant a fait l'objet de plusieurs travaux. Petit et coll.^[65] ont les premiers décrit une synthèse de tétraphénylporphyrine sous micro-ondes en l'absence de solvant en utilisant comme catalyseur de la silice ou de l'argile. Les rendements de ces systèmes ne dépassant pas 7 à 8%, cette méthode n'a pas été développée. Une autre approche développée par Drain et coll.^[66] a consisté à faire réagir le pyrrole et l'aldéhyde en phase gazeuse à haute température. Les rendements peuvent atteindre 20% dans certains cas mais la méthode reste limitée aux aldéhydes

^[64] Lucas R., Vergnaud J., Teste K., Zerrouki R., Sol V., Krausz P., *Tetrahedron Lett.*, **2008**, 49, 5537-5539.

^[65] Petit A., Loupy A., Maillard P., Momenteau M., *Synth. Commun.*, **1992**, 22, 1137-1142.

^[66] Drain C. M., Gong X., *Chem. Commun.*, **1997**, 2117-2118.

volatils. La synthèse sans solvant de porphyrines n'a donc que peu évolué durant ces dix dernières années.

La synthèse des porphyrines à grande échelle nécessitent l'utilisation de solvants et de catalyseurs toxiques pour l'environnement, une méthode alternative a récemment été développée au sein du LCSN. Selon cette approche, les *méso*-tétraarylporphyrines sont obtenues sans solvant, grâce à l'utilisation de charbon actif (prétraité à l'acide nitrique) utilisé comme promoteur acide.^[67] Cette méthode écologique est transposable à grande échelle car elle est simple à mettre en oeuvre, rapide, efficace et économique.

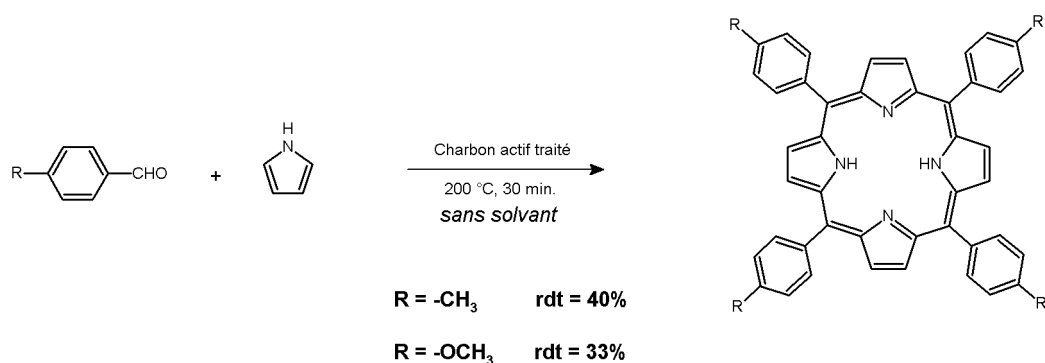


Figure 39 : Synthèse sans solvant, catalysée par le charbon actif traité, de tétra-arylporphyrines symétriques.

Les *méso*-porphyrines symétriques comme la tétratolyl- et la tétra-anisylporphyrine (figure 39) sont ainsi obtenues avec d'excellents rendements (respectivement 40% et 33%). Des porphyrines monofonctionnelles, portant notamment des substituants glycosylés, ont également été obtenues. Quelle que soit l'approche suivie, la préparation des *méso*-porphyrines non symétriques à partir de pyrrole conduit invariablement à la formation d'un mélange de porphyrines, nécessitant un fastidieux travail de purification.

3-3-1-2- Condensation de dipyrrométhane sur des aldéhydes

Au début des années 1960, Woodward et MacDonald^[68] ont synthétisé des *méso*-porphyrines β -substituées par réaction d'un dipyrrométhane non substitué sur les positions 5 et 5' avec un 5,5'-bis-formyldipyrrométhane. La méthode de MacDonald, connue sous le nom de méthode "2 + 2", conduit dans un premier temps à la formation d'un porphyrinogène qui est, dans un second temps, oxydé par l'air (figure 40).

^[67] Vignaud Y., Granet R., Krausz P., *J. Porphyr. Phtalocya.*, 10, **2006**, 937-941.

^[68] (a) Woodward R.B., *Angew. Chem.*, **1960**, 72, 651-662 ; (b) Woodward R.B., *Pure Appl. Chem.*, **1961**, 2, 383-404 ; (c) Arsenault G.P., Bullock E., MacDonald S.F., *J. Am. Chem. Soc.*, **1960**, 82, 4384-4389.

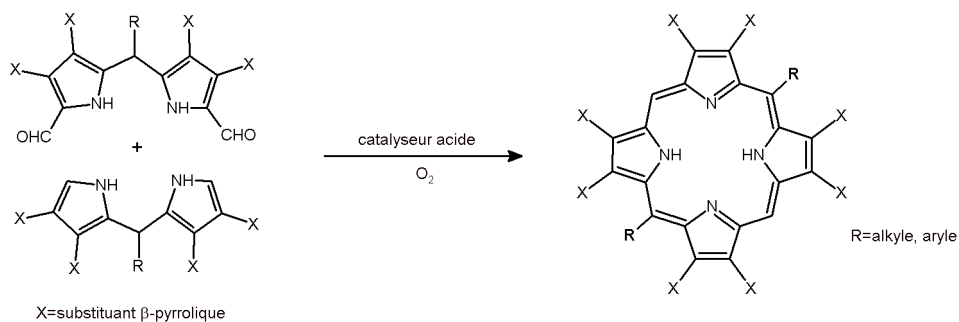


Figure 40 : Procédure générale de la méthode de Mac Donald.

Les méthodes généralement employées pour la préparation des dipyrrométhanés consistent, par exemple, à faire réagir un aldéhyde aliphatique sur le pyrrole par l'intermédiaire d'un réactif de Grignard.^[69] Une autre méthode d'obtention de dipyrrométhanés a été mise au point par Vigmond,^[70] réalisant la condensation directe du pyrrole sur différents aldéhydes dans un mélange THF/acide acétique. Finalement, Lindsey est parvenu à synthétiser "one-flask" plusieurs *méso*-dipyrrométhanés,^[71] l'aldéhyde réagissant avec un excès de pyrrole sous catalyse acide (TFA ou $\text{BF}_3\text{-ET}_2\text{O}$) à température ambiante.

L'utilisation de dipyrrométhanés a été par la suite très largement étudiée et appliquée à la synthèse de *méso*-porphyrines, plus particulièrement à la synthèse de *méso*-porphyrines *trans*. Ainsi, au cours des dix dernières années, Lindsey a réalisé une étude très détaillée de cette réaction qui conduit généralement à la formation d'un mélange isomérique *cis/trans*. Ce mélange est dû à l'acidolyse d'intermédiaire réactionnel, puis à la recombinaison des unités libérées. Ce processus d'échange, appelé "scrambling", est fréquemment observé lors de la condensation de polypyrranes.^[72] Le mécanisme est représenté sur la figure 41.

^[69] Casiraghi C., Cornia M., Rassa G., Del Sante C., Spanu P., *Tetrahedron*, **1992**, 48, 5619-5628.

^[70] Vigmond S.J., Chang M.C., Kallury K.M.R., Thompson M., *Tetrahedron Lett.*, **1994**, 35, 2455-2458.

^[71] Lee C-H., Lindsey J.S., *Tetrahedron*, **1994**, 50, 11427-11440.

^[72] Smith K. M., *Porphyrins and metalloporphyrins*, Ed. Elsevier, **1975**, 29-58.

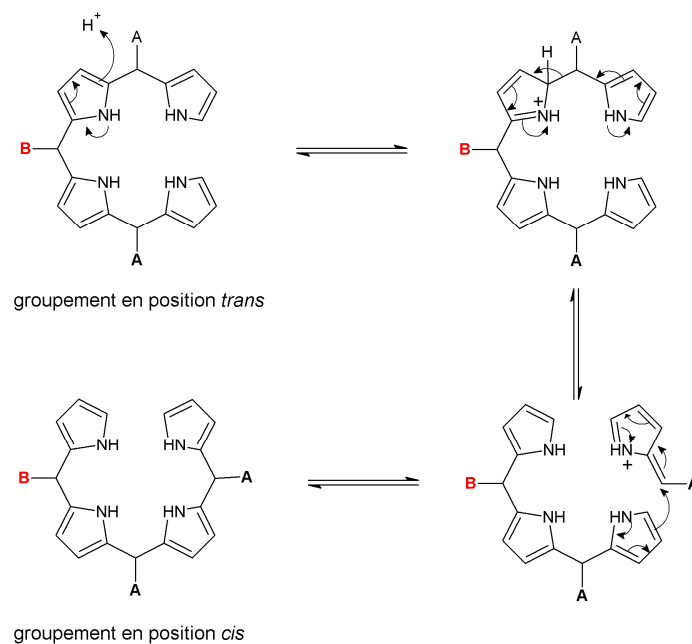


Figure 41 : Mécanisme du phénomène de "scrambling".

Lindsey a montré notamment qu'il était possible d'obtenir spécifiquement une *trans*-porphyrine en utilisant des dipyrrométhanes encombrés comme le mésityldipyrrométhane.^[73] Il a obtenu de cette façon la 5,15-bis(mésityl)-10,20-bis(4-méthylphényl) porphyrine avec un rendement de 48% sans observer la formation de l'isomère *cis* (figure 42).

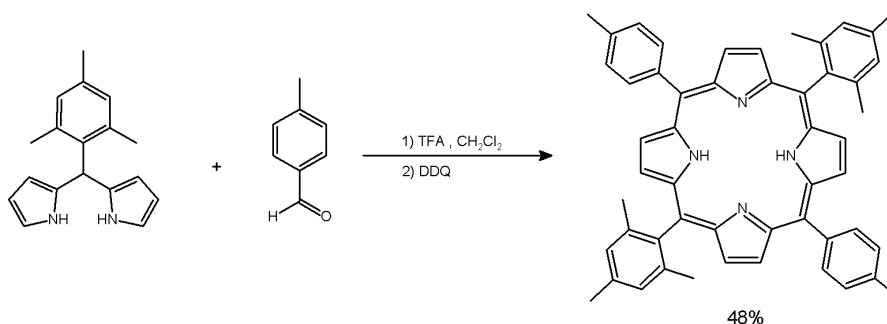


Figure 42 : Adaptation de la méthode MacDonald "2+2" à la synthèse de *trans* *méso*-porphyrines.

3-3-2- Synthèse de porphyrines β -substituées

3-3-2-1- À partir d'unités monopyrroliques

Cette méthode de synthèse repose sur le même principe général avec le pyrrole modifié en position β . L'une des principales stratégies de synthèse développée, utilisant des unités monopyrroliques, a été la tétramérisation de pyrroles non substitués en positions α en présence de

^[73] Littler B. J., Ciringh Y., Lindsey J. S., *J. Org. Chem.*, **1999**, 64, 2864-2872.

composés assurant la formation des ponts méthine. Ainsi, Treibs et Haberle ^[74] ont obtenu l'octaméthylporphyrine par réaction de 3,4-diméthylpyrrole avec le formaldéhyde dans l'acide acétique en présence de pyridine avec un rendement de 77% (figure 43).

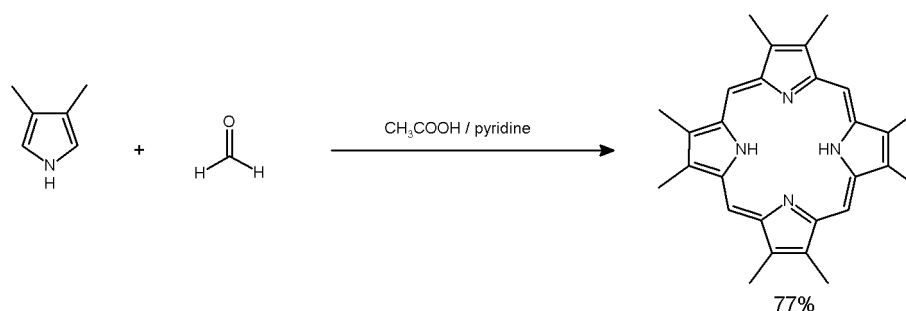


Figure 43 : Synthèse de l'octaméthylporphyrine.

Une autre approche importante passe par la condensation de pyrroles substitués en position 2 et/ou 5 (figure 44).

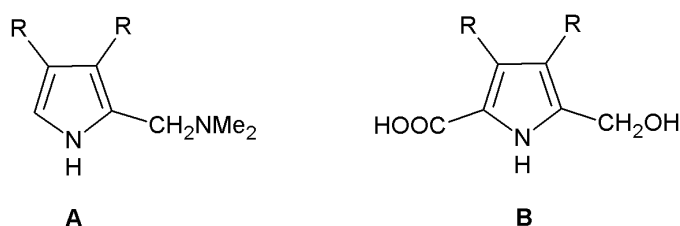


Figure 44 : Pyrroles substitués.

Siedel et Winkler ^[75] ont synthétisé de cette façon plusieurs porphyrines β -substituées en chauffant, à sec ou en solution, des pyrroles semblables au composé **B**. Par ailleurs, la condensation de pyrrole de type **A** suivie d'une oxydation par l'air a permis d'obtenir des porphyrines symétriques avec de bons rendements. Ce type de réaction n'a donné des résultats satisfaisants que si les deux positions β -pyrroliques sont substituées.

En 1996, Smith et coll. ^[76] ont présenté une nouvelle méthode permettant d'obtenir, à partir d'unités monopyrroliques, des octaalkylporphyrines symétriques isomériquement pures portant deux types de substituants différents (figure 45).

^[74] Treibs A., Haberle N., *Liebigs Ann. Chem.*, **1968**, 718, 183-207.

^[75] Siedel W., Winkler F., *Liebigs Ann. Chem.*, **1943**, 54, 162-201.

^[76] Nguyen L.T., Senge M.O., Smith K.M., *J. Org. Chem.*, **1996**, 61, 998-1003.

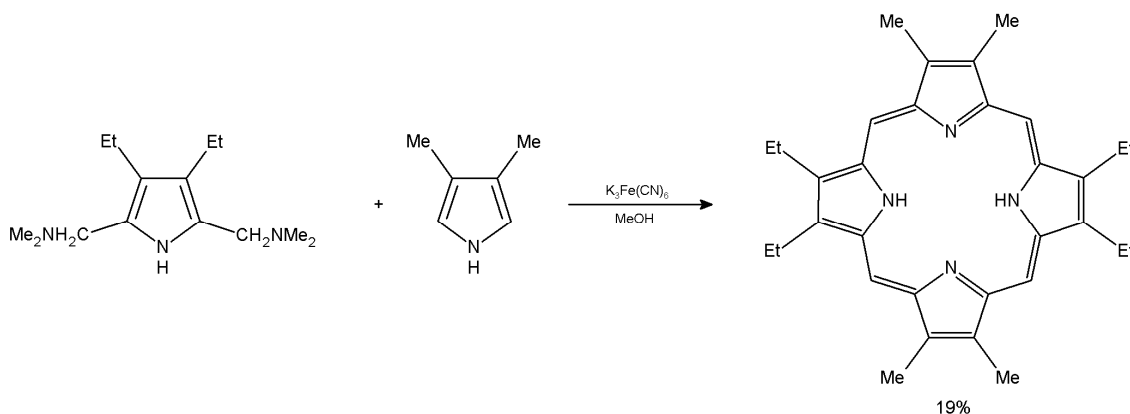


Figure 45 : Synthèse de la tétraéthyl-tétraméthylporphyrine.

Ils ont obtenu un rendement de 19% en effectuant la réaction en présence de $K_3Fe(CN)_6$ dans le but d'éviter la redistribution des sous-unités pyrroliques qui en milieu acide conduit à un mélange complexe de porphyrines.

3-3-2-2- À partir d'unités di et tripyrroliques

Cette voie utilisant des intermédiaires de type dipyrrométhane ou dipyrrométhène n'est adaptée qu'à la synthèse de porphyrines centrosymétriques ou ayant une symétrie dans l'une ou l'autre moitié de la molécule. Ainsi Fischer et coll.^[77] ont synthétisé, dans les années 1920-1930, de nombreuses porphyrines β -substituées à partir de dipyrrométhènes dans des solvants organiques acides à des températures supérieures à 200°C (figure 46).

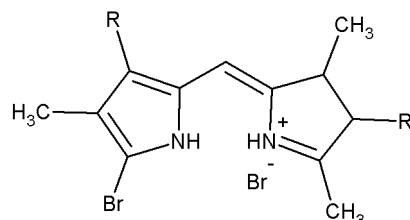


Figure 46 : Dipyrrométhènes utilisés par Fischer.

En 1960, Woodward et MacDonald^[68] ont utilisé comme précurseurs des unités dipyrrométhane. La méthode "2+2", que nous avons décrite précédemment pour la synthèse de *méso*-porphyrines, est souvent préférée à celle de Fischer pour ses conditions réactionnelles plus douces. Ces dernières années, une nouvelle approche nommée "3+1" est apparue. Celle-ci consiste à condenser un tripyrrane sur un diformyl-pyrrole (figure 47).

^[77] Fischer H., Friedrich H., Lamatsch W., Morgenroth K., *Techn. Hochschule, Munchen. Ann.*, **1928**, 466, 147-178.

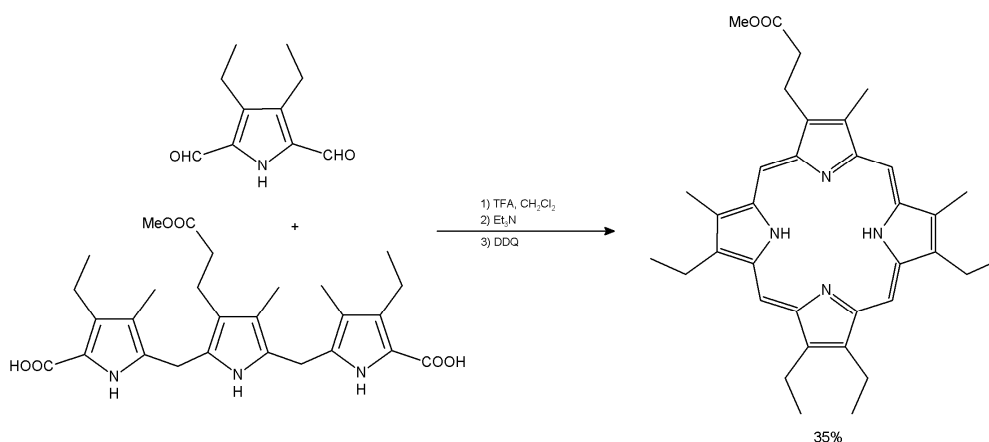


Figure 47 : Exemple de synthèse par la méthode "3+1".

Par cette méthode, il est possible de former des porphyrines β -substituées mono-fonctionnalisées ou di-fonctionnalisées sur le même pyrrole avec des rendements de l'ordre de 35%.^[78]

3-3-2-3- À partir d'unités tétrapyrroliques

Pour former le macrocycle tétrapyrrolique des porphyrines, la dernière possibilité stratégique consiste à cycliser des intermédiaires tétrapyrroliques linéaires. Cette approche est développée pour la synthèse de porphyrines β -substituées qui ne possèdent pas de symétrie.^[79] Nous ne ferons que citer à titre d'exemple la synthèse de l'isocoporphyrine. A la manière dont sont construites les séquences peptidiques ou nucléotidiques, l'intermédiaire est élaboré au cours d'une synthèse multi-étapes. Il est ensuite cyclisé, puis oxydé pour donner la porphyrine attendue.

3-3-3- Obtention de porphyrines β -substituées à partir de pigments animaux ou végétaux

3-3-3-1- Pigments d'origine animale

Certains macrocycles tétrapyrroliques naturels peuvent être isolés à partir du monde vivant. Dans ce cas, ce sont des porphyrines β -substituées. Ainsi, la protohème (isolée à partir de sang) plus connue sous le nom de chloroporphyrine de fer (III), est le dérivé porphyrinique le plus abondant dans les organismes animaux car il constitue le groupe prosthétique de l'hémoglobine et de la myoglobine. Elle est généralement isolée à partir de sang. La protoporphyrine IX est obtenue par simple démétallation de la protohème IX. La mésoporphyrine IX et l'hématoporphyrine IX sont obtenues par modification des bras vinyliques (figure 48).

^[78] Sessler J.L., Genge J.W., Urbach A., Sansom P., *Synlett*, **1996**, 2, 187-188.

^[79] (a) Smith K.M., *Porphyrins and Metalloporphyrins*, Smith K.M. (Ed.), Elsevier, Amsterdam, **1975**, 29-58 ; (b) Clezy P.S., *Aust. J. Chem.*, **1991**, 44, 1163.

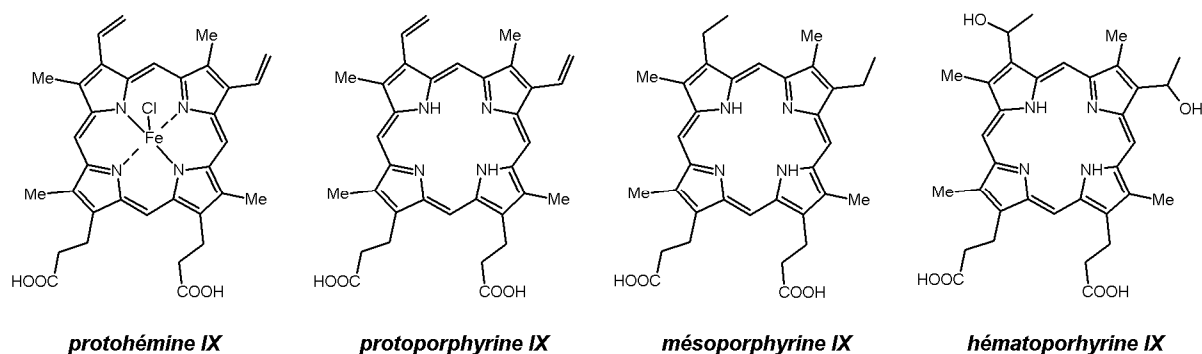


Figure 48 : Structures de la protohème et dérivés.

- La méthode de Fischer^[80]

Proposée par Fischer en 1955, cette méthode est devenue classique pour l'obtention de la protohème. Elle consiste à chauffer du sang défibriné en milieu acide, puis à isoler la protohème (par filtration ou centrifugation) lors du refroidissement du mélange. La purification est réalisée par recristallisation, ce qui permet d'obtenir 2,8 à 3,6 grammes de protohème pure par litre de sang.

- La méthode de Labbe et Nishida^[81]

Labbe et Nishida ont proposé une autre méthode, basée sur l'usage de chlorure de strontium, afin d'éliminer la majorité des protéines par filtration à chaud. La protohème cristallise dans le filtrat en cours de refroidissement, puis elle est purifiée, toujours par recristallisation. Les rendements obtenus par cette méthode sont sensiblement les mêmes que ceux obtenus par la méthode de Fisher.

3-3-3-2- Pigments d'origine végétale

D'autres dérivés tétrapyrroliques naturels sont isolés du règne végétal.^[82] Par exemple les chlorophylles **a** et **b**, sont extraites des feuilles des végétaux supérieurs. Ainsi la méthanolyse de la chlorophylle **a** fournit la chlorine-e6 triméthylester.^[83] D'autres dérivés porphyriniques ont également pu être obtenus par modification chimique de la chlorophylle **a**, notamment la phylloporphyrine XV diméthylester et la pyrroporphyrine XV diméthylester. (figure 49).^[84]

^[80] Fischer H., *Org. Synth. Coll.*, Vol. III, **1955**, 442-443.

^[81] Labbe R.F., Nishida G., *Biochem. Biophys. Acta*, 26, **1957**, 437.

^[82] Inhoffen H.H., *Naturwissenschaften*, **1968**, 55(10), 457-462.

^[83] Willstätter R., Utzinger M., *Justus Liebigs Annalen der Chemie*, **1911**, 382, 129-194.

^[84] (a) Willstätter R., Asahina Y., *Justus Liebigs Annalen der Chemie*, **1910**, 373, 227-238; (b) Fischer H., Seidel W., Le Thierry L., *Justus Liebigs Annalen der Chemie*, **1933**, 500, 137-202; (c) Drogat N., Barrière M., Granet R., Sol V., Krausz P., *Dyes Pigments*, **2011**, 88, 125-127.

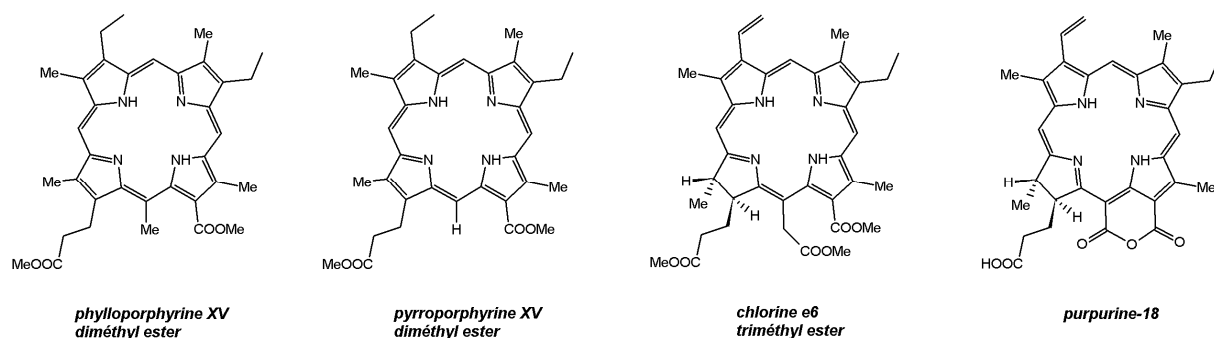


Figure 49 : Macrocyces tétrapyrroliques issus de la chlorophylle *a*.

3-4- Domaines d'applications

Le champ d'application des macrocyces tétrapyrroliques est très vaste ; catalyseur d'oxygénation de substrat organique, dégradation de matière organique, photodécomposition de l'eau, ou encore matériaux pour l'optoélectronique et système mimant le processus de photosynthèse. Ces composés, très souvent photosensibles intéressent également fortement les chercheurs pour leur application en photothérapie. Nous présentons ici quelques exemples d'applications choisis parmi les plus significatifs.

3-4-1- Applications chimiques

En raison de leur structure électronique particulière, les porphyrines ont souvent un caractère photosensible, ce qui en fait de bons candidats comme photosensibilisateurs de choix. En outre, les quatre azotes donneurs dirigés vers l'intérieur du macrocycle plan confèrent un très fort effet chélate aux porphyrines. En présence de métaux, elles forment des complexes très stables qui sont de puissants systèmes oxydoréducteurs. Par ailleurs, leur structure macrocyclique constitue un squelette rigide et stable, pouvant être substitué par de nombreux groupements fonctionnels. Les propriétés et la modularité des porphyrines ont attiré l'attention des chimistes, ouvrant les portes de vastes domaines de recherches, comme les oxydations thermiques, les oxydations photo-induites, la catalyse biomimétique ou la conversion de l'énergie lumineuse.

3-4-1-1- Oxydations thermiques catalysées par les métalporphyrines

Le métabolisme des organismes vivants est assuré par les systèmes à cytochromes P450. Ces enzymes sont susceptibles de catalyser un très grand nombre de réactions. Dans leur activité de type monooxygénase, ils oxydent une large palette de substrats, réalisant entre autres, l'époxydation d'alcènes et l'hydroxylation d'alcanes.^[85] L'oxydant utilisé est le dioxygène et le seul sous-produit est

^[85] Mansuy D., Berg J.M., *Bioinorganic catalysis*, Reedijk J. Ed., Dekker M., Inc., New York, **1993**, 395-468.

l'eau, on comprend donc l'intérêt industriel qu'il y aurait à mimer une telle réactivité. La chimie biomimétique met à profit la connaissance que nous avons de ces enzymes pour concevoir des catalyseurs de grande utilité. L'activité monooxygénase des cytochromes P450 peut être reproduite à l'aide de modèles métalloporphyriniques.^[86] Les plus couramment employées, parce que les plus efficaces sont les *méso*-porphyrines de fer ou de manganèse.^[87] En tant que catalyseurs biomimétiques, les métalloporphyrines présentent une souplesse d'utilisation remarquable. En effet, ces catalyseurs sont efficaces avec une large gamme d'oxydants, généralement peu dangereux et peu coûteux. Modifiable en plusieurs sites, la structure des métalloporphyrines a permis la conception de différentes générations de catalyseurs. Les *méso*-porphyrines substituées par quatre groupements aryles identiques (phényles ou tolyles) se sont avérées relativement résistantes aux conditions oxydantes, conduisant à la première génération de catalyseurs (FeTPPCl et MnTTPCl par exemple). Les catalyseurs de seconde génération ont une durée de vie accrue par l'utilisation de groupes aryle halogénés. Par rapport aux *méso*-porphyrines précitées, les catalyseurs de troisième génération ont démontré leur efficacité supérieure ; ces porphyrines sont substituées non seulement sur les phényles, mais aussi sur les pyrroles par des groupements électro-attracteurs (fluor, chlore, nitro, sulfonates...). Enfin, des systèmes porphyriniques chiraux ont été développés dans le but de proposer des catalyseurs stéréosélectifs pour la synthèse asymétrique.

3-4-1-1-1- Époxydation d'oléfines

Groves et coll.^[88] ont publié en 1979 les premiers travaux d'oxygénation thermique catalysée par des métalloporphyrines. Utilisant l'iodosylbenzène (PhIO) comme donneur d'oxygène, ils ont décrit l'époxydation d'oléfines (figure 50) en présence de tétraphényl ou tétratolylporphyrines ferriques (respectivement FeTPPCl et FeTTPCl).

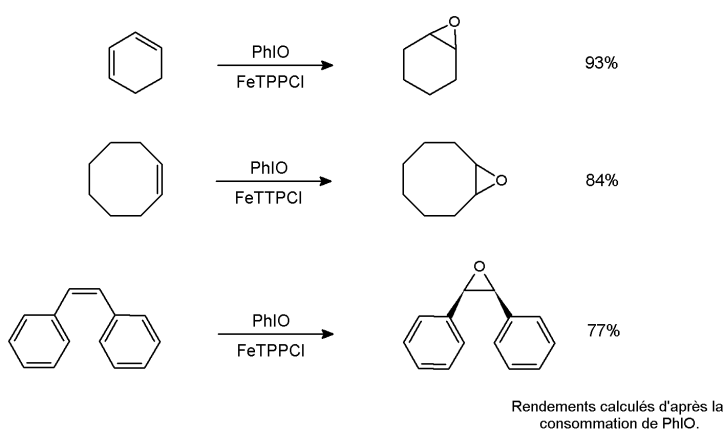


Figure 50 : Quelques exemples d'époxydations catalysées par des porphyrines de fer (III).^[88]

^[86] Mansuy D., *Pure and Appl. Chem.*, **1987**, 59, 759-770.

^[87] Montanari F., Casella L., *Metalloporphyrins Catalysed Oxydations*, Kluwer Accademic, Dordrecht, **1994**.

^[88] Groves J.T., Nemo T.E., Myers R.S., *J. Am. Chem. Soc.*, **1979**, 101, 1032-1033.

D'un point de vue mécanistique, ces métalloporphyrines forment transitoirement un dérivé oxo-métallique qui est à l'origine du transfert d'un atome d'oxygène (figure 51).^[89]

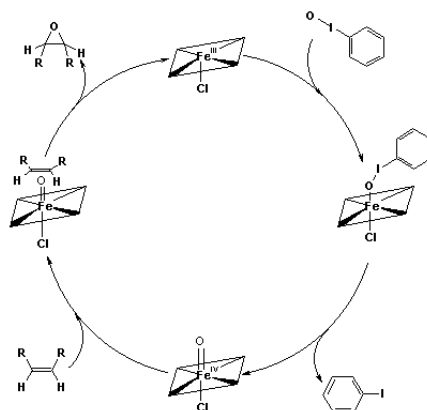


Figure 51 : Schéma du cycle catalytique mettant en jeu une porphyrine de fer (III) dans l'époxydation d'alcènes.^[89]

3-4-1-1-2- Hydroxylation d'alcanes

La conversion des alcanes en alcools est un processus industriel difficile pour lequel les métalloporphyrines sont des catalyseurs de choix, assurant l'insertion d'oxygène par l'activation des liaisons C-H à des températures douces.^[90] Les résultats obtenus par Groves sont présentés sur la figure 52.^[91]

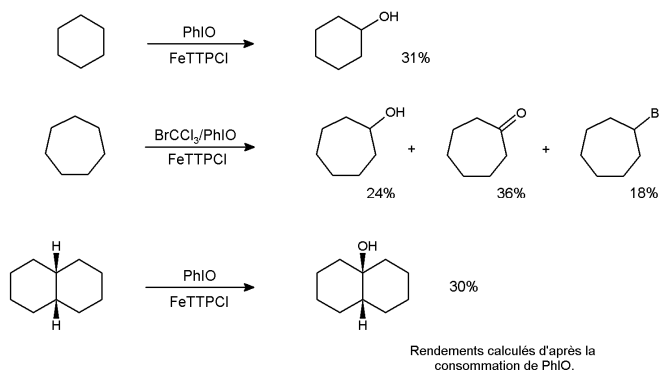


Figure 52 : Hydroxylation d'alcane catalysée par FeTTPCl.

La régiosélectivité avec laquelle la décaline est hydroxylée suggère la formation d'un radical alkyle, ce qui est en accord avec le cycle catalytique présenté sur la figure 53. Grâce à l'utilisation des métalloporphyrines de troisième génération, des rendements d'oxydation d'alcane linéaire (en alcools secondaires et cétones) à hauteur de 80% ont été atteints.^[92]

^[89] Groves J.T., Myers R.S., *J. Am. Chem. Soc.*, **1983**, 105, 5786-5791.

^[90] Filatov M., Harris N., Shaik S., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1999**, 38, 3510-3512.

^[91] Groves J.T., Nemo T.E., *J. Am. Chem. Soc.*, **1983**, 105, 6243-6248.

^[92] Mansuy D., Battioni P., *Bioinorganic catalysis*, Reedijk J. Ed., Dekker M., Inc., **1993**, 395-468.

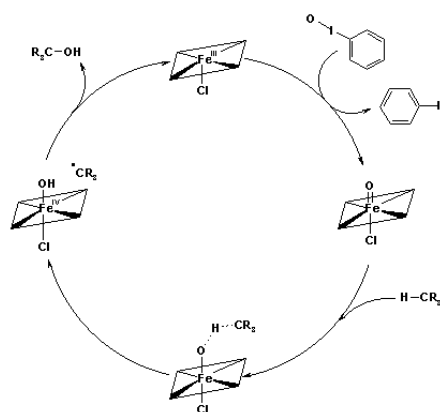


Figure 53 : Schéma du cycle catalytique générant des radicaux alkyles.^[93]

Des catalyseurs d'oxydations asymétriques ont été développés à partir de systèmes métalloporphyriniques chiraux. Il s'agit de porphyrines binaphtyles, à anses de panier ou encore de porphyrines glycosylées.^[94] Ces porphyrines constituent une cupule chirale qui catalyse une conversion de manière stéréosélective.

3-4-1-1-3- Clivages oxydatifs

D'autres conversions oxydantes de groupes fonctionnels ont été réalisées avec des catalyseurs tels que les porphyrines sulfonées métallées par du fer ou du manganèse (MnTPPS).^[95] Par exemple, Haber et coll.^[96] ont étudié la co-oxydation du styrène et de l'isobutyraldéhyde (figure 54).

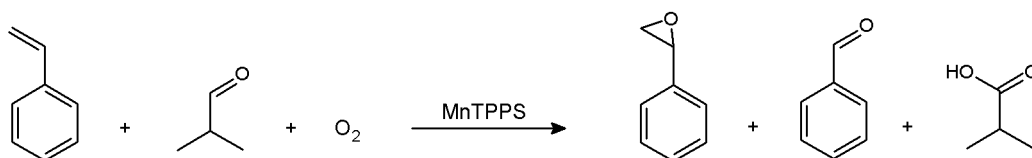


Figure 54 : Co-oxydation du styrène et de l'isobutyraldéhyde catalysée par MnTPPS.^[96]

Utilisant comme oxydant le dioxygène atmosphérique, cette réaction catalysée par la MnTPPS a ouvert une voie intéressante pour la conversion des oléfines terminales en aldéhydes.

3-4-1-2- Oxydations photo-induites

Sous l'influence de la lumière, l'oxygène, en présence d'un photosensibilisateur, est capable d'oxyder de nombreux composés organiques. Ces oxydations ont lieu selon deux modalités (mécanismes I et II) et s'effectuent en présence d'un colorant naturel (**P**) susceptible d'être excité par absorption d'un photon $h\nu$. Portée dans un état excité ($^1\mathbf{P}^*$), la molécule ne demande qu'à dissiper son

^[93] Groves J.T., Viski P., *J. Am. Chem. Soc.*, **1989**, 111, 8537-8538.

^[94] (a) Mansuy D., Battioni P., Renaud J-P., Guerin P., *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **1985**, 3, 155-156 ; (b) Maillard P., Guerin-Kern J-L., Momenteau M., *Tetrahedron Lett.*, **1991**, 32, 4901-4904.

^[95] (a) Labat G., Seris J.L., Meunier B., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1990**, 29, 1471-1473; (b) Meunier B., *Chem. Rev.*, **1992**, 92, 1411-1456.

^[96] Haber J., Kłosowski M., Połtowicz J., *J. Mol. Cat. A: Chem.*, **2003**, 201, 167-178.

excédent d'énergie, et son devenir après l'excitation lumineuse peut être décrit par le diagramme de Perrin-Jablonski (figure 55). Son retour à l'état fondamental peut se faire selon les processus photophysiques radiatif (fluorescence) ou non radiatif (dissipation d'énergie calorifique), concurrents de la réaction photochimique. Mais si le photosensibilisateur est une porphyrine, une conversion intersystème par inversion de spin électronique conduit à la formation d'une porphyrine à l'état triplet, $^3P^*$.^[97] Celle-ci peut se désactiver par les processus photophysiques (phosphorescence, dissipation d'énergie calorifique) et, surtout par réactions photochimiques selon deux mécanismes.

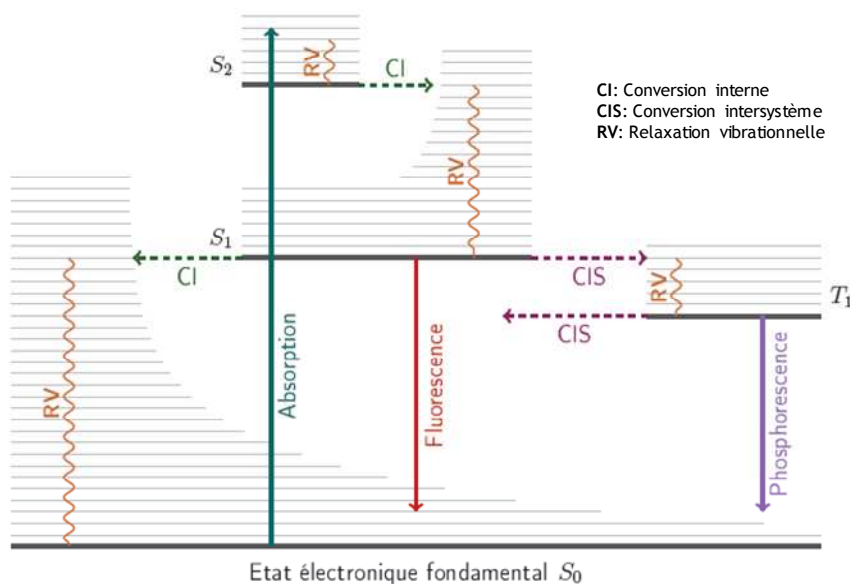


Figure 55 : Diagramme de Perrin-Jablonski.

- Le mécanisme radicalaire photo-induit (type I)

Ce mécanisme implique un transfert d'électron du photosensibilisateur vers une molécule de substrat, initiant une réaction radicalaire dont la chaîne de propagation est assurée par la présence d'oxygène moléculaire. Les produits obtenus seront nombreux car les peroxydes formés sont instables, ce qui conduit à des processus de dégradation ou de polymérisation. Par ailleurs, la porphyrine dans son état triplet peut céder un électron à l'oxygène, donnant l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) qui peut former des adduits.

- Le mécanisme photochimique (type II)

Ce mécanisme implique quant à lui le transfert d'énergie au dioxygène moléculaire. Il passe alors de son état fondamental (état triplet, 3O_2) à un état excité (état, singulet, 1O_2) qui est extrêmement électrophile. 1O_2 réagit avec les molécules du milieu, ce qui explique sa courte durée de vie dans le milieu (de l'ordre de la nanoseconde).

^[97] Jori G., Spikes J.D., *Photobiochemistry of porphyrins. Topics in photomedicine*. Smith K.C. Ed., Plenum Press, New York, 1984.

Un exemple typique d'adduit formé par l'oxygène singulet a été l'ascaridole, synthétisé par les végétaux. Il s'agit de l'endopéroxyde-1,4 issu de la photo-oxydation de l' α -terpinène, sensibilisé par les chlorophylles (figure 56A). Ce type de réaction a donné lieu à des travaux sur l'oxydation photosensibilisée d'oléfines. Une des réactions les plus étudiées a été l'hydropéroxydation des oléfines avec migration de la double liaison (figure 56B).^[98] Un autre exemple d'adduit formé par l'oxygène singulet est l'endopéroxyde d'acétate d'ergostérol (figure 56C).^[99] Depuis, l'utilisation des porphyrines comme agent d'oxydation photochimique a permis de nombreuses synthèses.^[100]

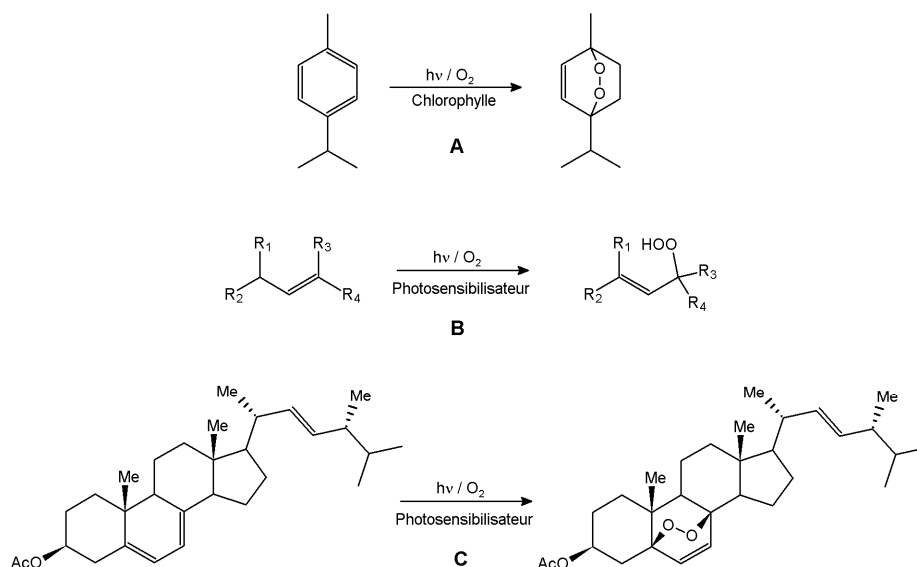


Figure 56 : A- Formation de l'ascaridole, B- Hydropéroxydation des oléfines, C- Formation de l'endopéroxyde d'acétate d'ergostérol.

3-4-1-3- Vers la photodécomposition de l'eau

Les porphyrines peuvent être utilisées pour convertir l'énergie solaire en dihydrogène, carburant propre et renouvelable par photodécomposition de l'eau. Ce processus a fait l'objet de nombreux travaux en raison de son impact potentiel dans le domaine des énergies renouvelables.^[101] Il consiste à exciter par la lumière visible un photosensibilisateur porphyrinique (S) qui va céder un de ses électrons à une substance relais (le méthylviologène, MV) et décomposer l'eau catalytiquement pour fournir du dihydrogène. A l'autre extrémité de la chaîne, un donneur (D) est oxydé en cédant un électron au photosensibilisateur (figure 57a).

^[98] Schenck G.O., *Angew. Chem.*, **1957**, 69, 579-599.

^[99] Ohloff G., *Pure Appl. Chem.*, **1975**, 43, 481-502.

^[100] Mansour E.M.K., Maillard P., Krausz P., Gaspard S., Giannotti C., *J. Mol. Cat.*, **1987**, 41, 361-366.

^[101] Lehn J.M., Kirch M., Sauvage J.P., Ziessel R., *La Recherche*, **1980**, 11, 205.

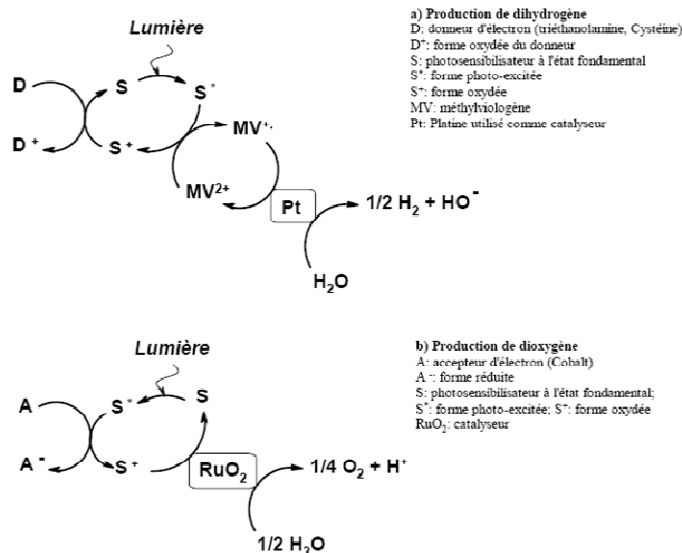


Figure 57 : Systèmes utilisés pour la photodécomposition de l'eau. (a) Production de dihydrogène, (b) Production de dioxygène.

Un tel système peut également être envisagé pour la production de dioxygène à partir d'eau (figure 57b).^[102] Dans ce cas, au lieu d'être réduite photochimiquement, l'eau est oxydée. Excité par la lumière, le sensibilisateur (S) s'oxyde en cédant son électron à l'accepteur (A). Son retour à l'état fondamental réduit est obtenu par l'oxydation du dioxyde de ruthénium, le métal achève un cycle catalytique par oxydation d'eau, formant ainsi le dioxygène.

3-4-2- Porphyrines et dispositifs photoniques

Ces dernières années, les macrocycles tétrapyrroliques métallés ou non se sont révélés être d'excellents candidats pour la conception de dispositifs moléculaires photoniques. Dans ce domaine, le champ d'application des macrocycles tétrapyrroliques est vaste ; élaboration de cristaux liquides,^[103] exploitation des propriétés d'optique non linéaire de matériaux résultant de l'assemblage de porphyrines pour le développement de système de communication optique, de stockage de données ou encore la conception de composants optoélectroniques. Avec comme principal enjeu une miniaturisation toujours plus importante des composants électroniques, un des principaux objectifs de la microélectronique est la conception d'interrupteurs, de fils, de transistors ou encore de portes logiques électroniques moléculaires. Plusieurs exemples de fils moléculaires constitués d'un enchaînement linéaire de porphyrines ont été décrits dans la littérature. Lindsey et Wagner^[104] ont quant à eux élaboré un fil moléculaire photonique formé par l'enchaînement de *méso*-arylporphyrines

^[102] Milgrom L.R., *The Colors of Life: an Introduction to the Chemistry of Porphyrins and Related Compounds*, Oxford Univ. Press, UK, **1997**, 151.

^[103] (a) Goodby J.W., Robinson P.S., Teo B.K., Cladis P.E., *Mol. Cryst. Liq. Cryst.*, **1980**, 56, 303-309 ; (b) Gregg B.A., Fox M.A., Bard A.J., *Chem. Commun.*, **1987**, 15, 1134-1135 ; (c) Shimizu Y., Miya M., Nagata A., Ohta K., Matsumura A., Yamamoto I., Kusabayashi S., *Chem. Lett.*, **1991**, 1, 25-28 ; (d) Liu C.Y., Pan H.L., Tang H., Fox M.A., Bard A.J., *J. Phys. Chem.*, **1995**, 99, 7632-7636 ; (e) Wang Q.M., Bruce D.W., *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **1997**, 36, 150-152.

^[104] Wagner R.W., Lindsey J.S., *J. Am. Chem. Soc.*, **1994**, 116, 9759-9760.

de zinc liées entre elles grâce à des ponts éthyne. Ce fil photonique comporte à une de ses extrémités un chromophore de type dipyrrométhène de bore qui constitue l'entrée du système et à l'autre extrémité une porphyrine base libre (figure 58). L'absorption d'un photon par le chromophore situé à l'entrée engendre l'émission d'un autre photon à la sortie du fil. Le rendement en transmission d'énergie est de l'ordre de 76% pour ce dispositif.

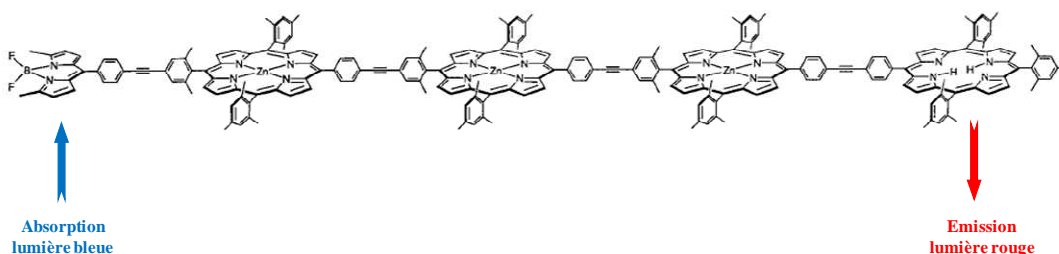


Figure 58 : Exemple de fil moléculaire constitué de porphyrines.

3-4-3- Modélisation de l'effet d'antenne du système photosynthétique

Essayer de mimer le transfert des électrons participant au processus de la photosynthèse chez les plantes permettrait de mieux comprendre cette étape indispensable chez les végétaux et en l'occurrence de la nature. L'étude de l'organisation spatiale de multi-porphyrines pour tenter d'étudier la migration d'un état excité le long d'une chaîne de chromophores et essayer de modéliser les antennes collectrices d'énergie lumineuse du système photosynthétique s'avère donc prometteuse. En effet, les chlorophylles de ces antennes sont orientées en cercle, parallèlement les unes aux autres, au sein de complexes polypeptidiques les maintenant en place. Réussir à organiser des porphyrines selon un modèle semblable au système naturel pourrait permettre de savoir si l'orientation des chlorophylles au sein des complexes collecteurs joue un rôle prépondérant dans l'efficacité de la nature à réaliser un transfert d'énergie rapide et avec un minimum de perte. Solladié et coll.^[105] se sont intéressés à la synthèse de dendrimères multiporphyriniques. La validité du concept proposé a été montrée par l'étude d'une nona-porphyrine à espaceurs nucléosidiques (figure 59). Un transfert d'énergie à 4 électrons des porphyrines périphériques de Zn (II) vers la porphyrine base-libre centrale a été mis en évidence.

^[105] (a) Flamigni L., Talarico A.M., Ventura B., Sooambar C., Solladié N., *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2006**, 11, 2155-2165 ; (b) Solladié N., Sooambar C., Herschbach H., Strub J.-M., Leize E., Van Dorsselaer A., Talarico A.M., Ventura B., Flamigni L., *New J. Chem.*, **2005**, 29, 1504-1507.

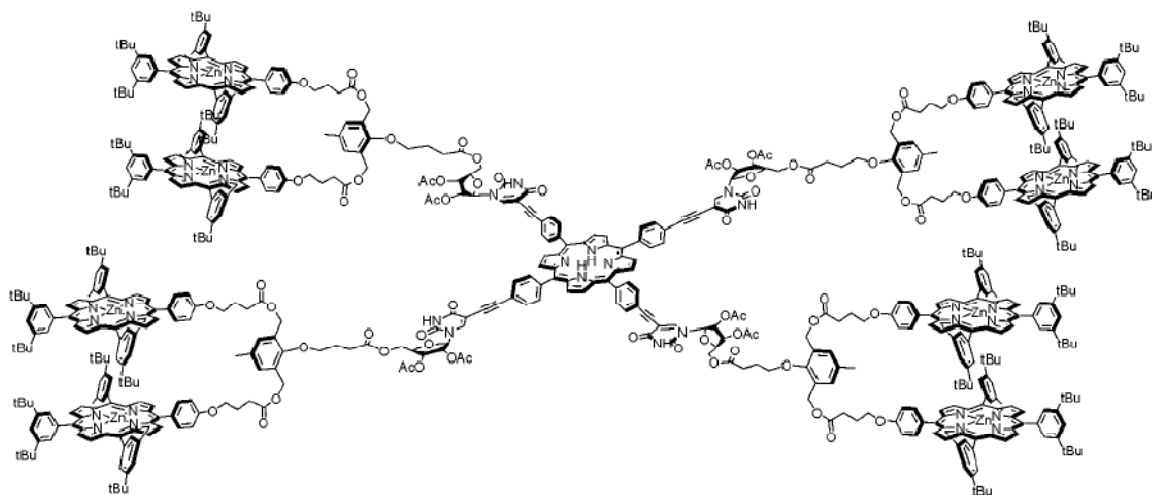


Figure 59 : Nona-porphyrine arborescente à espaceurs nucléosidiques.

3-4-4- Applications thérapeutiques des porphyrines

3-4-4-1- La photothérapie dynamique des cancers

La photothérapie dynamique (PDT pour *Photo-Dynamic Therapy*) est une méthode curative basée sur l'utilisation d'un agent photosensibilisateur, de type porphyrine par exemple, rendu cytotoxique par exposition à la lumière en présence de dioxygène. Cette technique originale de par son principe, présente l'avantage de ne provoquer que peu ou pas d'effet secondaire par rapport aux autres thérapies anticancéreuses que sont la chimiothérapie ou la radiothérapie.

Technique thérapeutique originale et innovante basée sur la destruction sélective des cellules tumorales au sein d'un tissu par l'action combinée d'un photosensibilisateur et de lumière, la PDT peut être utilisée pour deux applications ; une application thérapeutique mais aussi une application diagnostique. Rappelons que sur la plan thérapeutique, l'illumination d'un tissu présentant une tumeur enrichie en porphyrine induit des réactions chimiques oxydatives entraînant des altérations cellulaires irréversibles aboutissant à la destruction du tissu tout en préservant les tissus sains dépourvus de photosensibilisateur. Par ailleurs, les porphyrines peuvent également être utilisées pour les diagnostics ou photodiagnostic. Dans ce cas le photosensibilisateur excité par une lumière de longueur d'onde appropriée émet une fluorescence. L'analyse de cette émission de fluorescence permet de cibler avec précision les lésions néoplasiques avec une grande sensibilité. Le principe de ces deux applications est représenté sur la figure 60.

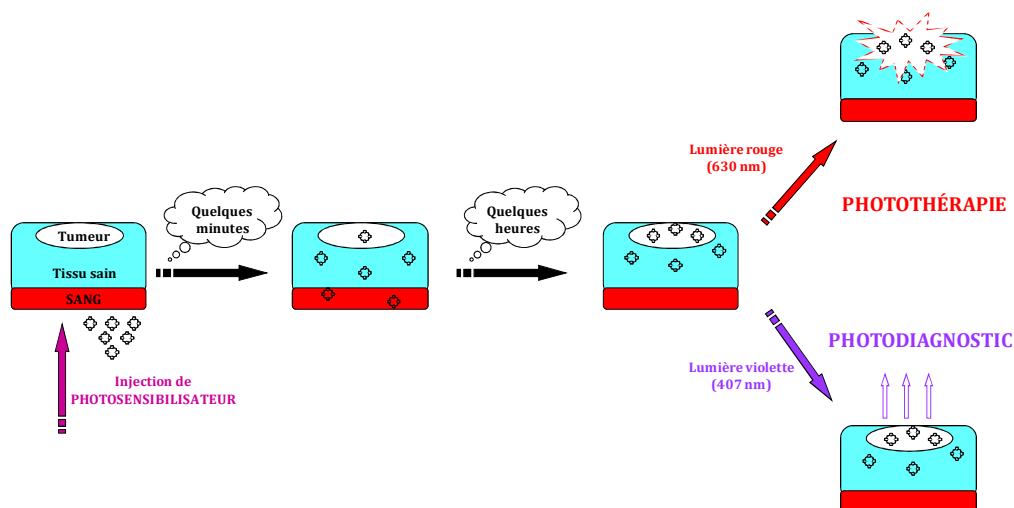


Figure 60 : Représentation schématique du principe de la photothérapie dynamique.

L'efficacité de la PDT est principalement attribuée à la formation d'oxygène singulet. La cytotoxicité de celui-ci est due à son extrême électrophilie, il s'additionne sur les liaisons π de toutes les biomolécules l'environnant (phospholipides membranaires, acides aminés, bases nucléiques).^[106] Cette extrême réactivité explique la très courte durée de vie de l'oxygène singulet (de l'ordre de la nanoseconde) et son court rayon d'action qui se limite à son site de formation,^[107] expliquant l'extrême difficulté à le quantifier dans les milieux biologiques. La mort cellulaire survient à la suite de lésions nucléaires (ADN et protéines) ou de lésions membranaires infligé à certains organites cytosoliques (mitochondries et lysosomes).^[108]

Les molécules utilisées en PDT des cancers sont essentiellement des photosensibilisateurs tétrapyrroliques. Les photosensibilisateurs phototoxiques de "première génération" regroupent l'hématoporphyrine (Hp) et ses dérivés que sont l'hématoporphyrine dérivée (HpD), et surtout le Photofrin[®] (peu sélectif). Ce dernier est un mélange complexe mal défini. La mise au point d'une nouvelle classe de photosensibilisateurs dits de "seconde génération" s'est donc avérée indispensable ; les recherches se sont tournées vers des photosensibilisateurs de structure bien définie. Nouvellement introduits en thérapie anti-cancéreuse, ces agents sont plus efficaces et moins contraignants que leurs prédécesseurs. En effet, ces molécules absorbent fortement dans le rouge et s'éliminent plus rapidement de l'organisme que le Photofrin[®]. Cette seconde génération de photosensibilisateurs comprend plusieurs familles de molécules telles que les porphyrines (*o*-THPP), les chlorines comme la tétra-(*mé*ta-hydroxyphényl)chlorine (*m*-THPC) ou Foscan[®] (commercialisée en 2002), les purpurines (Purlytin[®]), les texaphyrines (Xcytrin[®], Lutrin[®]) ou encore les précurseurs de porphyrines endogènes (l'acide 5-aminolévulinique ou 5-ALA, connu sous le nom de Levulan[®]) que nous avons représentés sur la figure 61.

^[106] Sternberg E.D., Dolphin D., Brückner C., *Tetrahedron*, **1998**, 54, 4151-4202.

^[107] Weishaupt K.R., Gomer C.J., Dougherty T.J., *Cancer Res.*, **1976**, 36, 2326-2329.

^[108] Mai M.S., Allison R.P., *Arch. Biochem. Biophys.*, **1983**, 221, 467-476.

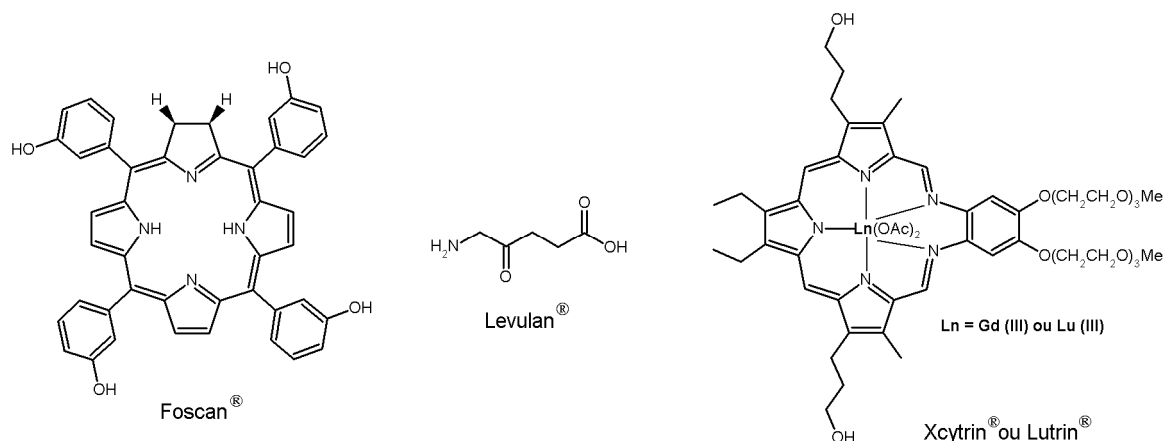


Figure 61 : Structure de quelques photosensibilisateurs dits de "seconde génération".

La "troisième génération" de photosensibilisateurs est actuellement en cours de développement. Ce sont des macrocycles (porphyrines, porphyrines, chlorines et phthalocyanines) substitués par des motifs de vectorisation et d'adressage, qui dérivent de ligands naturels spécifiquement reconnus par les cellules cancéreuses. Ces biomolécules peuvent être des stéroïdes, des sucres, des amines, des acides aminés ou des peptides.

Parmi les photosensibilisateurs étudiés, on retrouve le complexe estradiol-porphyrine,^[109] le complexe 4-carboxyphénylporphyrine-acide folique,^[110] les porphyrines et chlorines polyaminées,^[111] les porphyrines glycoconjuguées,^[112] et les porphyrines à motifs peptidiques.^[113] Quelques structures, synthétisées au sein de notre laboratoire, sont présentées ci-dessous (figure 62).

^[109] (a) James D.A., Swamy N., Paz N., Hanson R.N., Ray R., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1999**, 9, 2379-2384; (b) Swamy N., James D.A., Mhor S.C., Hanson R.N., Ray R., *Bioorganic & Medical Chemistry*, **2002**, 10, 3237-3243; (c) El-Akra N., Noirot A., Faye J.C., Souchard J.P., *Photochem. Photobiol. Sci.*, **2006**, 5, 996-999.

^[110] Schneider R., Schmitt F., Frochot C., Fort Y., Lourette N., Guillemin F., Müller J-F., Barberi-Heyob M., *Bioorg. Med. Chem.*, **2005**, 13, 2799-2808.

^[111] (a) Sol V., Lamarche F., Garcia G., Enache M., Granet R., Guilloton M., Blais J.C., Krausz P., *Bioorg. Med. Chem.*, **2006**, 14, 1364-1377 ; (b) Garcia G., Sol V., Lamarche F., Granet R., Guilloton M., Champavier Y., Krausz P., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2006**, 16, 3188-3192.

^[112] Kaldapa C., Blais J.C., Carré V., Granet R., Sol V., Guilloton M., Spiro M., Krausz P., *Tetrahedron Lett.*, **2000**, 41, 331-335.

^[113] (a) Sol V., Blais J.C., Carré V., Granet R., Guilloton M., Spiro M., Krausz P., *J. Org. Chem.*, **1999**, 64, 4431-4444 ; (b) Chaleix V., Sol V., Guilloton M., Granet R., Krausz P., *Eur. J. Org. Chem.*, **2003**, 1486-1493 ; (c) Chaleix V., Sol V., Guilloton M., Granet R., Krausz P., *Tetrahedron Lett.*, **2004**, 45, 5295-5299 ; (d) Bakleh M.E., Sol V., Estieu-Gionnet K., Granet R., Délérès G., Krausz P., *Tetrahedron*, **2009**, 65, 7385-7392.

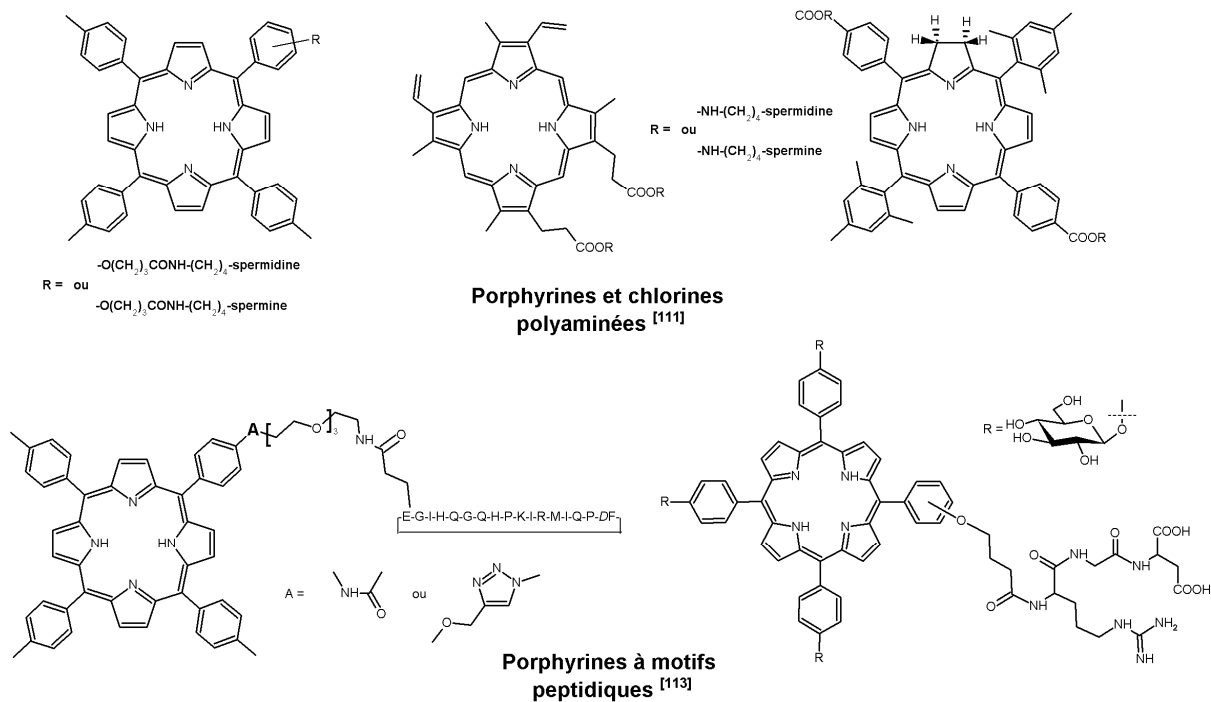


Figure 62 : Quelques exemples de photosensibilisateurs de troisième génération synthétisés au LCSN.

3-4-4-2- Utilisation en tant qu'agents antiviraux

L'ADN peut être endommagé par les porphyrines. En effet, les porphyrines cationiques présentant une forte affinité pour l'ADN sont capables de causer par voie chimique ou photochimique des coupures simples ou doubles brin. Ainsi en traitant *in vivo* des virus par des doses d'hématoporphyrine très peu toxique pour les cellules saines, Perlin et coll. ^[114] ont montré que certains virus pouvaient être inhibés. Les résultats les plus encourageants ont été observés avec le virus influenza A et le virus de l'herpès simplex de type 1. Le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) peut également être inhibé par des métalloporphyrines cationiques ou par certains dérivés d' amino ou d'hydroxyphénylporphyrine. L'activité n'est dans ce cas pas photochimique mais semble être liée à l'inhibition de la rétrotranscriptase virale. ^[115]

^[114] Perlin M., Mao J.C.H., Otis E.R., Shipkowitz N.L., Duff R.G., *Antiviral Res.*, **1987**, 7, 43-51.

^[115] (a) Ding L., Balzarini J., Schols D., Meunier B., De Clercq E., *Biochem. Pharmacol.*, **1992**, 44, 1675-1679 ; (b) Dixon D.W., Kim M.S., Kumar V., Obara G., Marzilli L.G., Schinazi R.F., *Antiviral Chem. Chemother.*, **1992**, 3, 279-282.

3-4-4-3- Utilisation dans le traitement de la cécité

Maladie dégénérative de la rétine, la dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA) est une maladie atteignant les vaisseaux sanguins proliférant sous la rétine. Cette pathologie atteint 2 % des 50-60 ans et jusqu'à 25 % des personnes âgées de plus de 80 ans. Dans les cas les plus graves, les vaisseaux anormaux non étanches prolifèrent sous la rétine altérant ainsi la vision centrale. Seule la photocoagulation des néovaisseaux par un laser thermique permet de la traiter, brûlant malheureusement une partie de la rétine. Depuis 2000, la vertéporfine nommée commercialement Visudyne[®], est utilisée pour traiter cette maladie (figure 63). En effet, la vertéporfine en s'accumulant naturellement et rapidement dans les vaisseaux rétiens permet après son activation par un laser optique, l'obstruction des vaisseaux tout en épargnant la rétine. Ce type de traitement peut être renouvelé plusieurs fois jusqu'à ce que le patient soit guéri.^[116]

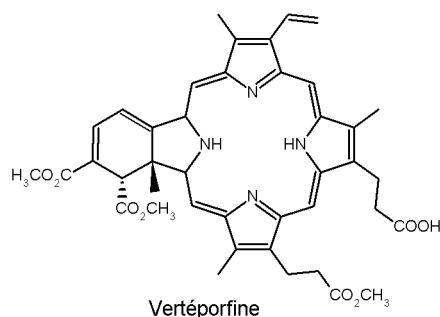


Figure 63 : Structure de la Visudyne[®].

Les porphyrines trouvent également une application thérapeutique dans la lutte antibactérienne. Nous avons porté une attention toute particulière à la photothérapie antimicrobienne que nous nous proposons d'examiner plus en détail dans le paragraphe suivant.

^[116] Bressler N.M., *Arch. Ophthalmol. (Chicago)*, **2001**, 119, 198-207.

4- PACT et surfaces photobactéricides

Si l'effet photodynamique des porphyrines est largement reconnu en cancérologie, une autre application a pu être mise en évidence ces dernières années, l'effet antimicrobien. Il s'agit du concept de photochimiothérapie antibactérienne (PACT ou *Photo-Antimicrobial ChemoTherapy*). Ce principe basé, comme la PDT, sur l'utilisation combinée de sensibilisateur et de lumière visible, est une approche prometteuse pour l'inactivation des micro-organismes. D'une organisation moins complexe, les cellules microbiennes procaryotes ont été utilisées en tant que modèles simplifiés des cellules cancéreuses eucaryotes pour l'étude des mécanismes de photosensibilisation par les porphyrines. Néanmoins, les cellules bactériennes à Gram positif et à Gram négatif présentent de telles différences ultrastructurales au niveau de leur enveloppe (figure 64) que l'étude des systèmes microbiens est devenue un domaine d'investigation à part entière.

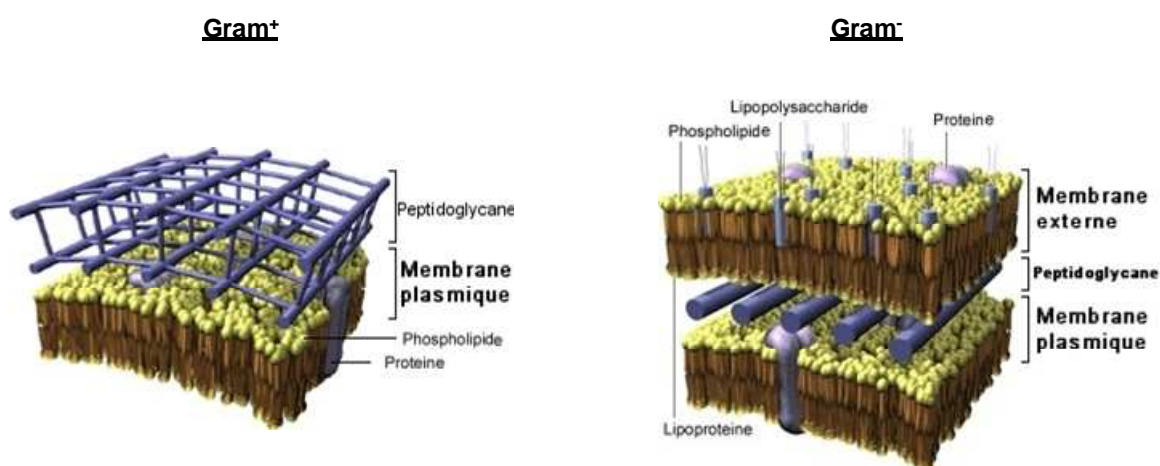


Figure 64 : Représentation schématique de l'enveloppe bactérienne, Gram positif et Gram négatif.

4-1- Historique de la photoinactivation des cellules microbiennes

Ce n'est qu'au début des années 1980 que les premiers travaux de photoinactivation bactérienne ont été entrepris sur la souche Gram⁺ *Staphylococcus aureus*, utilisée comme premier modèle d'étude. Nitzan et Malik ^[117] puis Jori et coll. ^[118] ont montré que les bactéries, en phase exponentielle de croissance, traitées par de faibles doses de porphyrines et de lumière sont inhibées et leur croissance stoppée. Alors qu'après 2 heures, plus de 99 % des bactéries sont détruites et qu'après 10 heures, aucune cellule viable n'est détectée (culture stérile) en présence de porphyrines et de lumière, aucun effet significatif n'a pu être observé lorsque les cellules ont été placées à l'obscurité confirmant la nécessité de la combinaison des deux facteurs, lumière et photosensibilisateur. Il a

^[117] (a) MaliK Z., Gozhansky S., Nitzan Y., *Microbiol. Lett.*, **1982**, 21, 103-112 ; (b) Nitzan Y., Gozhansky S., MaliK Z., *Curr. Microbiol.*, **1983**, 8, 279-284.

^[118] Bertoloni G., Dall'Acqua M., Vazzoler M., Salvato B., Jori G., *Porphyryns in Tumor Phototherapy*, Plenum, New York, **1983**, 177-183.

également été démontré que les bactéries anaérobies sont sensibilisées en absence d'oxygène permettant de mettre en évidence l'importance des radicaux libres impliqués au cours du processus photodynamique.^[119] Quant aux bactéries Gram⁻, l'expérience sur *Escherichia coli* a montré une résistance totale vis-à-vis des dommages photo-induits par les porphyrines à moins que les cellules soient traitées au préalable avec du toluène ou des enzymes dans le but de désorganiser leur structure membranaire externe.^[120] Dans le but de comprendre et d'élucider le mécanisme mis en jeu lors de la photoinactivation des cellules bactériennes, des études sur les mycoplasmes (bactéries génétiquement dépourvues de paroi cellulaire) ont montré une photodestruction immédiate des cellules induite par les porphyrines d'une manière comparable à celle de cellules eucaryotes.^[121]

4-2- Les processus photochimiques

Le processus photochimique commence par l'illumination du photosensibilisateur par une lumière visible (figure 65). Cette irradiation induit l'absorption d'un photon d'énergie $h\nu$ par le photosensibilisateur puis entraîne son passage du niveau d'énergie fondamentale S_0 à un état singulet excité noté S_1 . A partir de là, deux possibilités s'offrent au photosensibilisateur, retour à l'état fondamental S_0 avec émission de fluorescence ou bien, si la durée de vie de l'état singulet excité est suffisamment longue (ce qui est souvent le cas pour les porphyrines) passer dans un état excité triplet (noté T_1) par inversion de spin électronique au cours d'un processus appelé conversion intersystème (C.I.S). Dans ce cas, le retour à l'état fondamental transition théoriquement impossible est très lent. La porphyrine peut se désactiver par phosphorescence ou en réagissant avec son environnement selon le mécanisme radicalaire photo-induit (de type I) ou le mécanisme photochimique (de type II), déjà décrits précédemment à la page 44, et de ce fait revenir à son état fondamental.

^[119] Venezio F.R., Di Vincenzo C., Sherman R., Reichman R., Origitano T.C., Thompson K., Reichman O.H., *J. Infect. Dis.*, **1985**, 151, 166-169.

^[120] (a) Boye E., Moan J., *Photochem. Photobiol.*, **1980**, 31, 223-228; (b) Ehrenberg B., Malik Z., Nitzan M., *Photochem. Photobiol.*, **1985**, 41, 429-435.

^[121] Bertolini G., Viel A., Grossato A., Jori G., *J. Gen. Microbiol.*, **1985**, 131, 2217-2223.

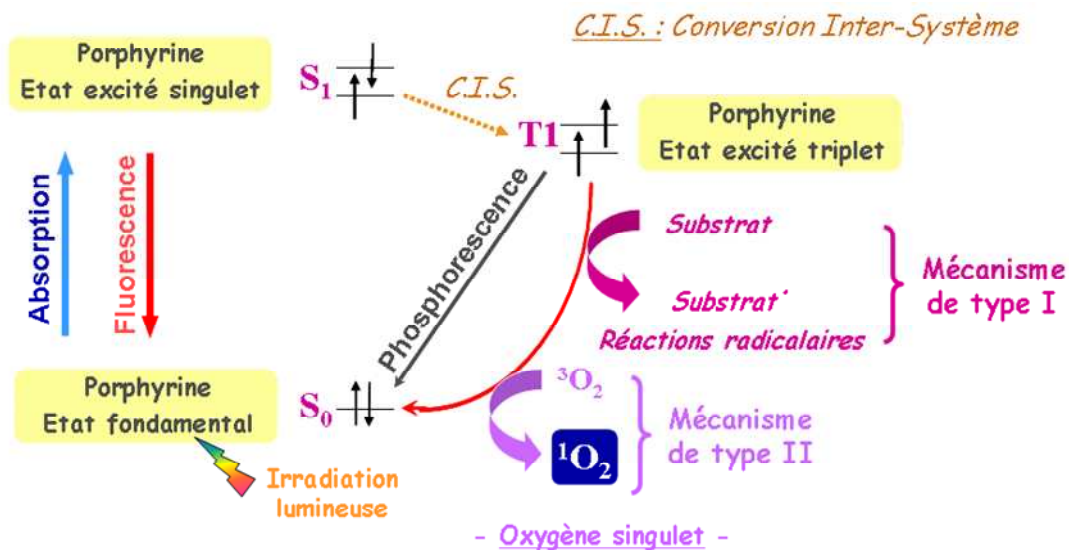


Figure 65 : Mécanisme photochimique de la PDT.^[122]

4-3- Mécanisme de la photoinactivation des cellules bactériennes

Ehrenberg et coll.^[123] ont démontré par spectroscopie de fluorescence que l'activité photodynamique antimicrobienne requiert la fixation des porphyrines sur les bactéries. En effet, les bandes observées à 613 nm et 677 nm pour l'HpD en solution aqueuse, sont déplacées respectivement à 631 nm et 692 nm lorsque celle-ci se trouve dans un environnement lipidique tel que des vésicules de lécithine. Aussi l'incubation de *Staphylococcus aureus* dans un milieu enrichi en HpD, montre une rapide fixation des porphyrines à la membrane cellulaire. Dans ces mêmes conditions, beaucoup moins de porphyrines se fixent sur les membranes cellulaires d'*Escherichia coli*. A partir de cette expérience, Nitzan et coll.^[124] ont conclu que la paroi des bactéries Gram⁻ empêche la fixation des porphyrines sur ce type de bactérie, résultat confirmé par le fait que les sphéroplast, obtenus en enlevant la membrane externe et le peptidoglycane de bactéries Gram⁻, fixent les porphyrines. De plus, ces éléments constitutifs spécifiques de la paroi des bactéries Gram⁻ empêcheraient la fixation des porphyrines au niveau de la membrane interne. Ces observations ont permis d'affirmer que la fixation des porphyrines au niveau de la membrane cytoplasmique est indispensable à la photoinactivation des cellules bactérienne.

Ces mêmes auteurs ont alors proposé un mécanisme (figure 66) décrivant la photoinactivation des cellules bactériennes,^[124] comportant quatre étapes :

- absorption de la porphyrine au niveau de la paroi bactérienne,
- fixation de la porphyrine à la membrane interne cytoplasmique,
- translocation de la porphyrine dans le cytoplasme,

^[122] Bonnett R., *New Scientist*, **1989**, 55.

^[123] Gross E., Malik Z., Ehrenberg B., *J. Membr. Biol.*, **1987**, 97, 215-221.

^[124] Malik Z., Hanania J., Nitzan Y., *J. Photochem. Photobiol., B: Biol.*, **1990**, 5, 281-293.

- photoinactivation des bactéries par les porphyrines liées à la membrane interne ou par celles présentes dans le cytoplasme.

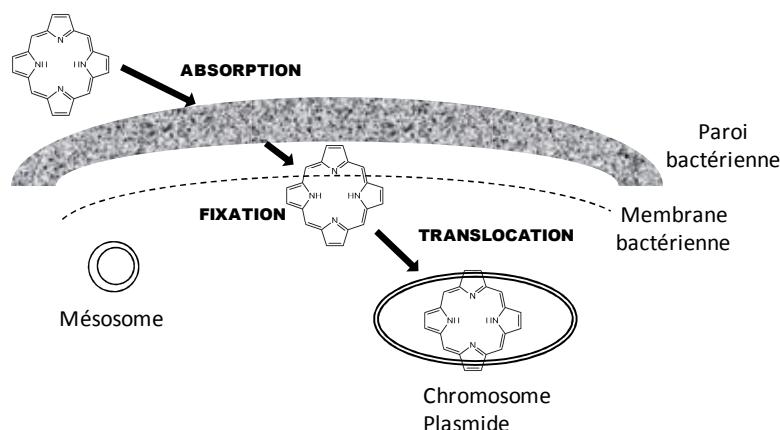


Figure 66 : Mécanisme proposé pour la photoinactivation des bactéries.^[124]

Le premier effet noté dans les cultures traitées par les porphyrines et illuminées est une baisse du taux de propagation des cellules, suivie d'une rapide mort cellulaire et d'une baisse notable de la formation de colonies.^[117b] Cette inhibition des bactéries s'accompagne également d'une baisse rapide de la consommation de glucose marquée au ^{14}C . Des études par microscopie électronique à transmission ont révélé qu'après une heure de photoinactivation, la plupart des cellules traitées sont incapables d'accomplir la synthèse de leur paroi bactérienne ainsi que leur division cellulaire.

Par ailleurs, durant le processus de mort cellulaire, la synthèse d'ADN est immédiatement stoppée au début de l'interaction porphyrine-bactérie. Cette inhibition affecte également la synthèse d'ARN et donc des protéines. Les cellules bactériennes survivant au traitement photodynamique sont incapables d'effectuer la synthèse ou la translocation de la pénicillinase (enzyme exprimée par le chromosome plasmidique) traduisant une réduction de la résistance à la pénicilline.

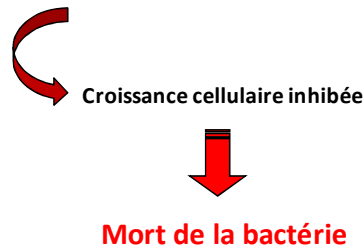
Un autre site affecté par le traitement photodynamique est la membrane plasmique. Un des résultats de la photosensibilité des cellules bactériennes chez les micro-organismes à Gram⁺ est l'apparition d'une structure multi lamellaire (proche du septum de cellule en division), le mésosome.^[125] L'augmentation du volume de cette structure mésosomale et de la fréquence de son apparition dans les cellules dépend fortement du temps de traitement. De plus, il a été démontré que les réactions oxygène-dépendantes accrues par la photosensibilisation due aux porphyrines induit des désordres dans la synthèse de la membrane et dans la synthèse de la paroi bactérienne ainsi que la peroxydation des lipides insaturés membranaires.

Les sites et les causes des dommages dans la cellule bactérienne induits par la photoinactivation des porphyrines sont regroupés au tableau 2.

^[125] Bertolini G., Salvato B., Dall'Acqua M., Vazzoler M., Jori G., *Photochem. Photobiol.*, **1984**, 39, 811-816; (b) Malik Z., Ladan H., Nitzan Y., *Curr. Microbiol.*, **1988**, 16, 321-328.

Tableau 2 : Sites bactériens mis en jeu lors de la photoinactivation des bactéries.^[124]

<i>Localisation cellulaire</i>	<i>Paroi Bactérienne</i>	<i>Membrane Plasmique</i>	<i>Métabolisme</i>
Photo-dommage provoqué	Inhibition de la formation de septum	Synthèse altérée	Inhibition de la synthèse (ADN, ARN, protéines)
		Formation de mésosome	Inhibition de la consommation en glucose Inhibition du transport de la pénicillinase



En associant au photosensibilisateur un agent désorganisant la membrane bactérienne tel que le PMNP (nonapeptide cationique issu de la polymyxine), Nitzan et Malik ^[126] ont pu mettre en évidence la photoinactivation des bactéries à Gram⁻ comme *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*. En effet, l'action de porphyrine associée au PMNP montre une photoinactivation des bactéries supérieure à 99 % après une heure de traitement pour les deux souches étudiées. Des études spectroscopiques de fluorescence ont mis en évidence l'interaction porphyrine-PMNP et le complexe (porphyrine/PMNP)-bactérie. La fixation des porphyrines sur les cellules bactériennes, démontrée par une bande de fluorescence déplacée à 622 nm de la deutéroporphyrine, augmente avec une diminution de pH du milieu. Le rôle du PMNP a également été mis en évidence, il est responsable de la désorganisation structurale de la membrane (perméabilisation de la membrane externe) sans affecter ses fonctions et plus précisément, il ne cause pas la libération des constituants cellulaires impliqués dans son métabolisme. L'analyse par microscopie électronique à transmission révèle une perturbation de la division cellulaire, l'altération du cytoplasme, la désorganisation de la structure pariétale, la synthèse d'ADN et de protéines affectée. L'association porphyrine-PMNP est donc responsable de l'altération de la structure bactérienne suivie d'une lyse cellulaire conduisant à la mort de la bactérie, lors du processus de photoinactivation.

Ces travaux réalisés sur les bactéries Gram⁻ ont permis de mettre en évidence le rôle d'un agent désorganisant dans le phénomène cytotoxique afin de compléter l'étude mécanistique de la photoinactivation bactérienne. Ces résultats complémentaires ont permis de généraliser le mécanisme proposé (figure 66) et les sites bactériens impliqués (tableau 2) aux différents types bactériens et plus précisément, le processus fondamental de la photoinactivation bactérienne par les porphyrines.

^[126] Nitzan Y., Gutterman M., Malik Z., Ehrenberg B., *Photochem. Photobiol.*, **1992**, 55, 89-96.

4-4- Développement de la PACT

Les bases fondamentales de la photoinactivation des bactéries par les porphyrines étant posées, le développement de nouvelles molécules pour l'inactivation des micro-organismes a pris un essor considérable dans le but d'apporter une alternative à la résistance ou à la multi-résistance vis-à-vis des antibiotiques.

Les premières études de Merchat et Jori ^[127] ont permis de mettre en évidence la relation structure-activité, plus précisément l'importance de la charge nette du photosensibilisateur dans l'inactivation bactérienne en utilisant la tétra-(4-sulfonatophényl) porphyrine, la tétra-(N-méthyl-pyridinium) porphyrine et l'hématoporphyrine comme porphyrine anionique, cationique et neutre respectivement. En effet, les porphyrines anioniques et neutres ne sont efficaces que contre les bactéries Gram⁺ alors que l'inactivation de bactéries Gram⁻ nécessite l'ajout d'un agent désorganisant la membrane comme le PMNP. En revanche, les porphyrines cationiques se trouvent être efficace vis-à-vis des deux types bactériens sans ajout d'agent perturbant la membrane. La figure 67 illustre les différentes porphyrines utilisées lors de cette étude fondamentale de la PACT.

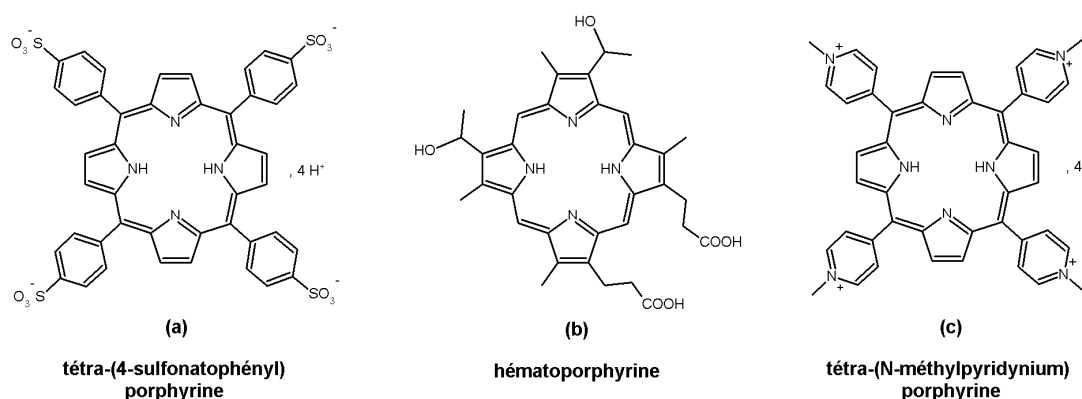


Figure 67 : Porphyrines (a) anioniques, (b) neutres et (c) cationiques utilisés par Merchat et Jori.^[127]

Concernant les porphyrines non chargées, l'état monomérique intervient, en effet il a été montré que la production d'oxygène singulet est plus importante sous la forme monomère que sous la forme agrégat.^[128] Pour les porphyrines chargées, le phénomène d'interactions électrostatiques entre en jeu. Les porphyrines chargées négativement subissent des répulsions électrostatiques avec les charges négatives de la surface bactérienne alors que les porphyrines cationiques jouent un rôle de désorganisateur de membrane comme le PMNP. En ce qui concerne l'inactivité des bactéries Gram⁻, les porphyrines anioniques et non chargées sont incapables de perméabiliser la membrane externe alors que les porphyrines cationiques désorganisent aussi bien la membrane externe que la membrane interne.

^[127] (a) Merchat M., Bertolini G., Jori G., *J. Photochem. Photobiol. B.*, **1996**, 32,153-157; (b) Merchat M., Spikes J.D., Bertolini G., Jori G. *J. Photochem. Photobiol. B.*, **1996**, 35,149-157.

^[128] Gottfried V., Peled D., Winkelman J.W., Kimel S., *Photochem. Photobiol.*, **1988**, 48, 157-163.

A partir de ces résultats, plusieurs études portant sur les photosensibilisateurs cationiques ont été entreprises afin d'étudier la photoinactivation de diverses souches bactériennes, notamment celles présentant une multi-résistance comme *Enterococcus seriolicida*, *Actinomyces viscosus*, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus* méthicilline-résistant ou MRSA, par exemple, et le mécanisme d'action de ces composés.^[129] En particulier au sein de notre laboratoire, l'activité photobactéricide de quelques photosensibilisateurs a fait l'objet de plusieurs travaux.^[130] Des porphyrines nitroglucosylées ont montré une efficacité sur des bactéries Gram⁺ alors que des porphyrines polyaminées, quant à elle, une importante activité vis-à-vis des Gram⁻ en absence de PMNP (figure 68).

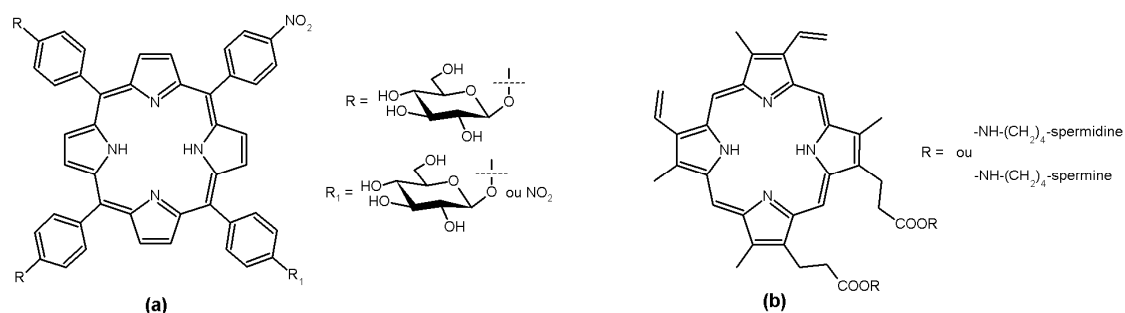


Figure 68 : Photosensibilisateurs nitroglucosylés (a) et polyaminés (b) à activité antibactérienne.

Basée sur le même principe que la PACT, la photothérapie antifongique est devenue à part entière une application de celle-ci. En effet, l'augmentation de la résistance vis-à-vis d'agents antifongiques amenant de graves infections par les pathogènes du genre *Candida* ou *Aspergillus* a renouvelé l'intérêt de la PACT dans le domaine de la lutte contre les champignons. Les propriétés antifongiques des porphyrines ont été démontré dès le début des années 1980 par Ito,^[131] utilisant *Saccharomyces cerevisiae* comme organisme modèle et permettant d'évaluer les dommages cellulaires induits par la photoinactivation des cellules eucaryotes. L'efficacité de la photothérapie antifongique a notamment été reporté vis-à-vis de *Candida albicans*.^[132, 133]

^[129] (a) Wood B., Natress B., Kirkham J., Shore R., Brookes J., Robinson C.J., *J. Photochem. Photobiol. B.*, **1999**, 50, 1-7; (b) Nitzan Y., Ashkenazi H., *Curr. Microbiol.*, **2001**, 42, 408-414 ; (c) Taylor P.W., Luzio J.P., Stapleton P.D., *Drug Discovery Today*, **2002**, 7, 1086-1091; (d) Tomé J.P., Neves M.G., Tomé A.C., Cavaleiro J.A., Soncin M., Magaraggia M., Ferro S., Jori G., *J. Med. Chem.*, **2004**, 47, 6649-6652; (e) Salmon-Divon M, Nitzan Y., Malik Z., *Photochem. Photobiol. Sci.*, **2004**, 3, 243-429; (f) Spesia M.B., Lazzeri D., Pascual L., Rosavera R., Durantini E., *Immun. and Med. Microbiol.*, **2005**, 44, 289-295; (g) Caminos D.A., Durantini E., *J. Porphyr. Phthalocya.*, **2005**, 9, 334-342; (h) Banfi S., Caruso E., Buccafurni L., Battini V., Zazzaron S., Barbieri P., Orlandi V., *J. Photochem. Photobiol. B.*, **2006**, 85, 28-38.

^[130] (a) Sol V., Branland P., Granet R., Kaldapa C., Verneuil B., Krausz P., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1998**, 8, 3007-3010 ; (b) Sol V., Branland P., Chaleix V., Granet R., Guilloton M., Lamarche F., Verneuil B., Krausz P., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2004**, 14, 4207-4211.

^[131] (a) Ito T., *Photochem. Photobiol.*, **1981**, 34, 521-524; (b) Ito A., Ito T., *Photochem. Photobiol.*, **1983**, 37, 395-401.

^[132] (a) Zoladek T., Nguyen B.N., Jagiello I., Graczyk A., Rytka J., *Photochem. Photobiol.*, **1997**, 66, 253-259; (b) Bliss J.M., Bigelow C.E., Foster T.H., Haidaris C.G., *Antimicrob. Agent Chemother.*, **2004**, 48, 2000-2006; (c) Lambrechts S.A.G., Aalders M.C.G., Van Marle J., *Antimicrob. Agent Chemother.*, **2005**, 49, 2026-2034; (d) Fuchs B.B., Tegos G.P., Hamblin M.R., Mylonakis E., *Antimicrob. Agent Chemother.*, **2007**, 51, 2929-2936; (e) Cormick M.P., Alvarez M.G., Rovera M., Durantini E.N., *Eur. J. Med. Chem.*, **2009**, 44, 1592-1599.

^[133] Carré V., Gaud O., Sylvain I., Bourdon O., Spiro M., Blais J., Granet R., Krausz P., Guilloton M., *J. Photochem. Photobiol. B : Biol.*, **1999**, 48, 57-62.

Bien que sa détection directe par les techniques spectroscopiques dans les cellules photosensibilisées nécessite la résolution de plusieurs problèmes techniques, il est maintenant admis que l'oxygène singulet est l'agent oxydant principal impliqué dans la photosensibilisation de nombreux systèmes biologiques mais l'implication de radicaux libres ne doit pas être négligée.^[134] Une autre approche de la photothérapie dynamique antimicrobienne est apparue sous la forme d'un nouveau concept, les surfaces photobactéricides.

4-5- Les surfaces photobactéricides : un autre aspect de la PACT

En 1978, Bezman et coll.^[135] ont démontré que des suspensions de culture bactériennes d'*Escherichia coli* sont tuées en présence de billes de polystyrène imprégnées par un sensibilisateur, le rose de Bengale, lorsque celles-ci sont irradiées par de la lumière visible. Le phénomène responsable de cette photoinactivation bactérienne repose sur la diffusion de l'oxygène singulet dans l'air, mise en évidence par Kautsky^[136] au cours des années 1930. Le dispositif expérimental permettant de démontrer cette propriété de diffusion de l'oxygène singulet est illustré sur la figure 69.

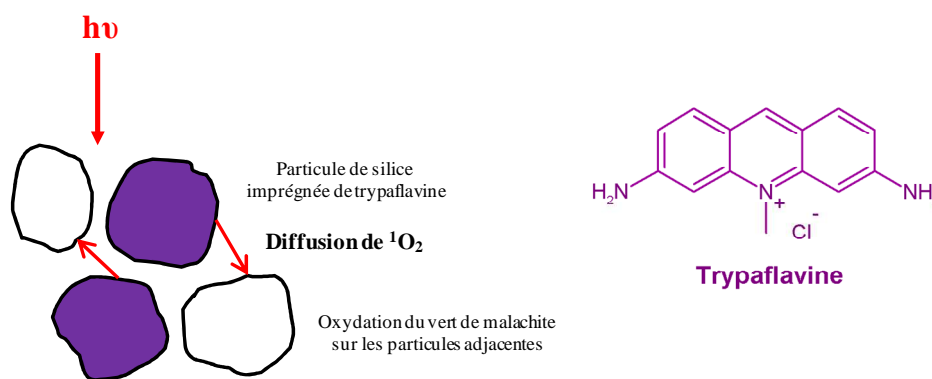


Figure 69 : Mise en évidence de la diffusion de l'oxygène singulet par Kautsky.^[136]

Des particules de silice imprégnées d'un photosensibilisateur, la trypaflavine (colorant sous la forme d'un sel d'acridinium) sont capables d'induire, après irradiation lumineuse, l'oxydation du vert de leucomalachite adsorbé sur les particules de silice adjacentes. Grâce à cette photooxydation, observée de façon plutôt originale, Kautsky a pu démontrer la photogénération ainsi que la propriété de diffusion de l'oxygène singulet. D'après ces observations, Midden et Wang^[137] ont introduit en 1983 une approche nouvelle de l'étude de la photothérapie dynamique antimicrobienne avec le concept de surfaces photobactéricides. En effet, ils ont démontré que l'oxygène singulet pouvait

^[134] (a) Kanofsky J.R., Hoogland H., Weiss S.J., *J. Biol. Chem.*, **1988**, 263, 9692-9696; (b) Ergaieg K., Chevanne M., Cillard J., Seux R., *Sol. Energy*, **2008**, 82, 1107-1117.

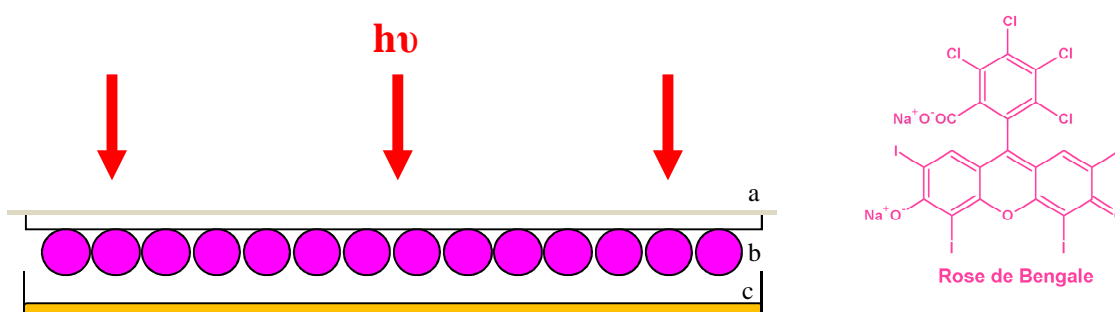
^[135] Bezman S.A., Burtis P.A., Izod T.P.J., Thayer M.A., *Photochem. Photobiol.*, **1978**, 28, 325-329.

^[136] (a) Kautsky H., de Bruijn H., *Naturwiss.*, **1931**, 19, 1043; (b) Kautsky H., de Bruijn H., Neuwirth R., Baumeister W., *Berichte*, **1933**, 66, 1588-1600; (c) Kautsky H., *Trans. Faraday Soc.*, **1939**, 35, 216-219.

^[137] Midden W.R., Wang S.Y., *J. Am. Chem. Soc.*, **1983**, 105, 4129-4135.

diffuser jusqu'à 200 nm dans l'eau et jusqu'à 1 mm dans l'air, à pression atmosphérique, ce qui les a conduit à l'élaboration d'un tel concept.

Dahl et coll.^[138] ont démontré que des bactéries de type *Salmonella typhimurium* et *Escherichia coli*, déposées sur des membranes filtrantes sont détruites par un photosensibilisateur, le rose de Bengale immobilisé sur des billes de verre (situées à moins d'1 mm), qui n'étaient pas physiquement en contact avec les membranes (figure 70). La diffusion de l'oxygène singulet dans l'air de 0,65 mm a été démontrée par cette expérience ; de plus sa durée de vie a été estimée à 0,76 ms. La séparation physique du photosensibilisateur et des bactéries, impliquant qu'aucune interaction entre les sensibilisateurs excités et les bactéries ne peut avoir lieu, élimine donc toutes les réactions de photooxydation aboutissant à une photobactéricidie selon un mécanisme de type I.



a- Lame de verre, b- Bille de polystyrène imprégnée de Rose de Bengale, c- Suspension de souche bactérienne déposée sur membrane filtrante.

Figure 70 : Schéma expérimental de Dahl et coll.^[138]

Une définition du concept des surfaces photobactéricides, appliquée aux photosensibilisateurs tels que les porphyrines, a pu être établie par Bonnett en 1994.^[139] Ce concept a pour principe de produire des surfaces possédant une activité photobactéricide de la manière suivante ; si un photosensibilisateur de type porphyrine par exemple, est incorporé dans une surface solide, alors en présence de lumière visible, de l'oxygène singulet devrait être généré à sa superficie. L'oxygène singulet, qui rappelons le, est une espèce réactive toxique pour les cellules vivantes, réagit avec un grand nombre de biomolécules et dans ce cas, il endommage ou détruit les cellules et les microorganismes présents à la surface. Si l'oxygène singulet ne réagit pas avec une biomolécule environnante, il retourne à son état fondamental et ce de manière inoffensive. Ce concept permettrait de réduire la population des bactéries au contact de telle surface comme le montre le schéma ci-dessous (figure 71).

^[138] Dahl T.A., Midden W.R., Hartman P.E., *Photochem. Photobiol.*, **1987**, 46, 345-352.

^[139] Bonnett R., Buckley D.G., Galia A.B.B., Burrow T., Saville B., *PDT sensitizers: a new approach to clinical applications in Biologic Effects of Light 1993*, Jung E.G., Holick M.F. (Eds.), de Gruyter, Berlin, **1994**, 303-311.

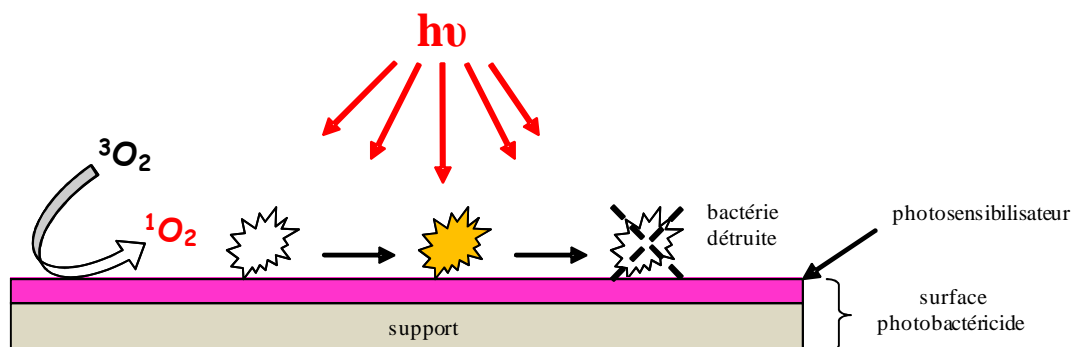


Figure 71 : Concept des surfaces photobactéricides.

De ce fait, un polymère ne réagissant pas avec l'oxygène singulet, offre la possibilité d'obtenir des surfaces ayant des propriétés photobactéricides à long terme et ne produisant pas de produit secondaire toxique pour l'environnement comme les produits chlorés par exemple.

Les premiers résultats consistant à élaborer des surfaces photobactéricides avec des porphyrines comme photosensibilisateurs ont été décrits par Bonnett.^[140] Des films de cellulose régénérée (cellophane), d'une épaisseur de 50 μm , imprégnés de porphyrine tétracationique (tétra N-méthylpyridinium porphyrine tétratosylate) ont montré une activité photobactéricide sur les souches *S. aureus*, *E. coli*, *B. subtilis* ainsi que *P. vulgaris* après 50 h d'irradiation. Deux mécanismes possibles sont considérés, l'action directe de l'oxygène singulet généré à la superficie du film sur les cellules bactériennes ou la libération lente du photosensibilisateur dans le milieu environnant.

Afin de pouvoir appliquer efficacement ce concept dans le domaine médical (stérilisation de surfaces et textiles en milieu hospitalier par exemple), l'imprégnation du photosensibilisateur au sein d'une surface polymérique doit amener la propriété d'action permanente et durable, sans libération du photosensibilisateur. Pour cela, l'alternative la mieux adaptée serait la fixation du photosensibilisateur par greffage chimique et plus précisément par greffage covalent.

Bozja et coll.^[141] ont décrit en 2003 la synthèse de fibre synthétique photobactéricide ; un dérivé aminé de la protoporphyrine IX a été greffé sur des fibres de nylon 6,6 modifiées par l'acide polyacrylique (augmentant ainsi le taux de greffage en photosensibilisateur) par l'intermédiaire d'un lien amide. Après irradiation lumineuse, les fibres protoporphyriniques (illustré sur la figure 72) sont capables de détruire la souche *S. aureus*.

^[140] (a) Bonnett R., Buckley D.G., Burrow T., Galia A.B.B., Seville B., Songca S.P., *J. Mater. Chem.*, **1993**, 3, 323-324; (b) Bonnett R. Galia A.B.B., *Biotechnol. Biotec. Eq.*, **1994**, 8, 68-74; (c) Bonnett R., Evans R.L., Galia A.B.B., *Proc. Soc. Photo-opt. Instrum. Eng.*, **1997**, 3191, 79-88.

^[141] Bozja J., Sherrill J., Michielsen S., Stojiljkovic I., *J. Polym. Sci. Pol. Chem.*, **2003**, 41, 2297-2303.

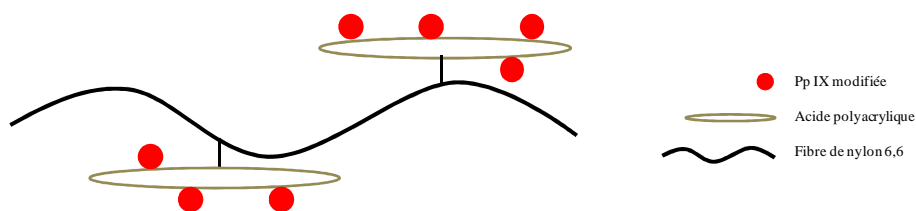


Figure 72 : Nylon 6,6 protoporphyrinique élaboré par Bozja.^[141]

Ces résultats démontrent qu'un photosensibilisateur de type porphyrine, possédant des propriétés antibactériennes connues, peut garder son pouvoir de photoinactivation (notamment par la production d'oxygène singulet) même si celui-ci est greffé chimiquement sur un support polymérique.

Dans le même ordre d'idée, des films plastiques photobactéricides ont été élaboré récemment au sein de notre laboratoire à partir de la cellulose et d'acide gras.^[142] La fixation de porphyrines fonctionnelles sur le polysaccharide modifié a permis l'obtention de films plastiques. Des laurates de cellulose *méso*-arylporphyriniques et protoporphyriniques ainsi que des chloroacétates de cellulose pyridylporphyriniques cationiques élaborés ont montré une activité photobactéricide vis-à-vis des souches *E. coli* et *S. aureus*. La figure 73 présente, à titre d'exemple, les structures chimiques ainsi que les photographies de laurate de cellulose protoporphyrinique et de chloroacétate de cellulose pyridylporphyrinique cationique.

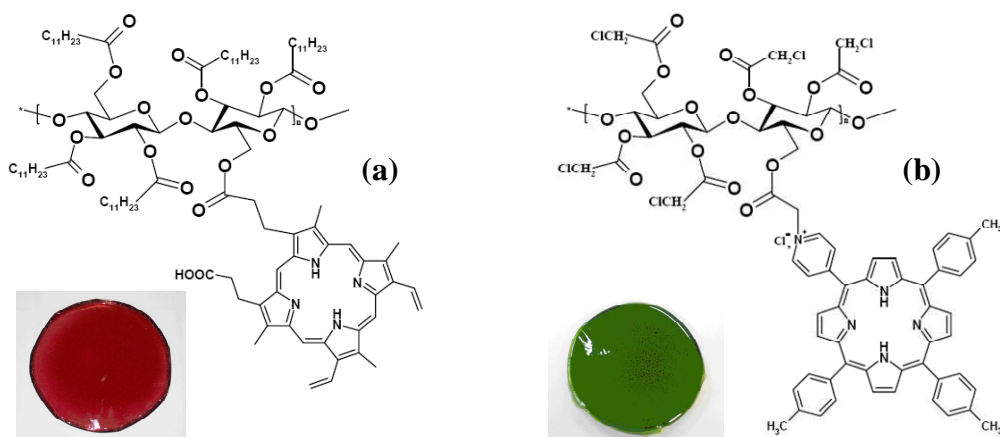


Figure 73 : Films plastiques photobactéricides, (a) laurate de cellulose protoporphyrinique et (b) chloroacétate de cellulose pyridylporphyrinique cationique, mis au point par Krouit.^[142]

Dans le cas où le photosensibilisateur est lié chimiquement au support polymérique, le mécanisme de photoinactivation (précédemment présenté à la figure 66) n'est plus approprié puisque le photosensibilisateur ne peut pénétrer la cellule bactérienne. Le mécanisme d'action est différent de celui pour les porphyrines en solution ; l'oxygène singulet, lui seul, est responsable de la destruction des bactéries.

^[142] (a) Krouit M., Granet R., Branland P., Verneuil B., Krausz P., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2006**, 16, 1651-1655; (b) Krouit M., Granet R., Krausz P., *Bioorg. Med. Chem.*, **2008**, 16, 10091-10097; (c) Krouit M., Granet R., Krausz P., *Eur. Polym. J.*, **2009**, 45, 1250-1259.

5- Objectifs du travail

Dans la continuité des travaux effectués au sein de notre laboratoire, sur la conception de surfaces antibactériennes, nous avons souhaité élaborer des tissus photobactéricides à motifs porphyriniques. En effet ces nouveaux types de matériaux porphyriniques n'ont jamais été étudié malgré le fort intérêt qu'ils représentent dans la lutte antibactérienne, dans des domaines aussi variés que la chirurgie, les textiles techniques, l'emballage, les milieux stériles, le transport, l'ameublement...

Nous nous sommes ainsi intéressés au coton qui est constitué de cellulose, comme matériau polymère. Avec pour finalité d'élaborer des tissus possédant une activité antibactérienne durable et permanente, la meilleure alternative serait l'utilisation du greffage chimique. Ce dernier permettrait la création d'un lien covalent entre le composé actif et le polymère.

Ainsi ont été synthétisés, dans un premier temps, des tissus triazinyl *méso*-arylporphyriniques par fixation de porphyrines aminées (neutre, anionique et cationique) sur la cellulose avec un lien 1,3,5-triazine (figure 74).

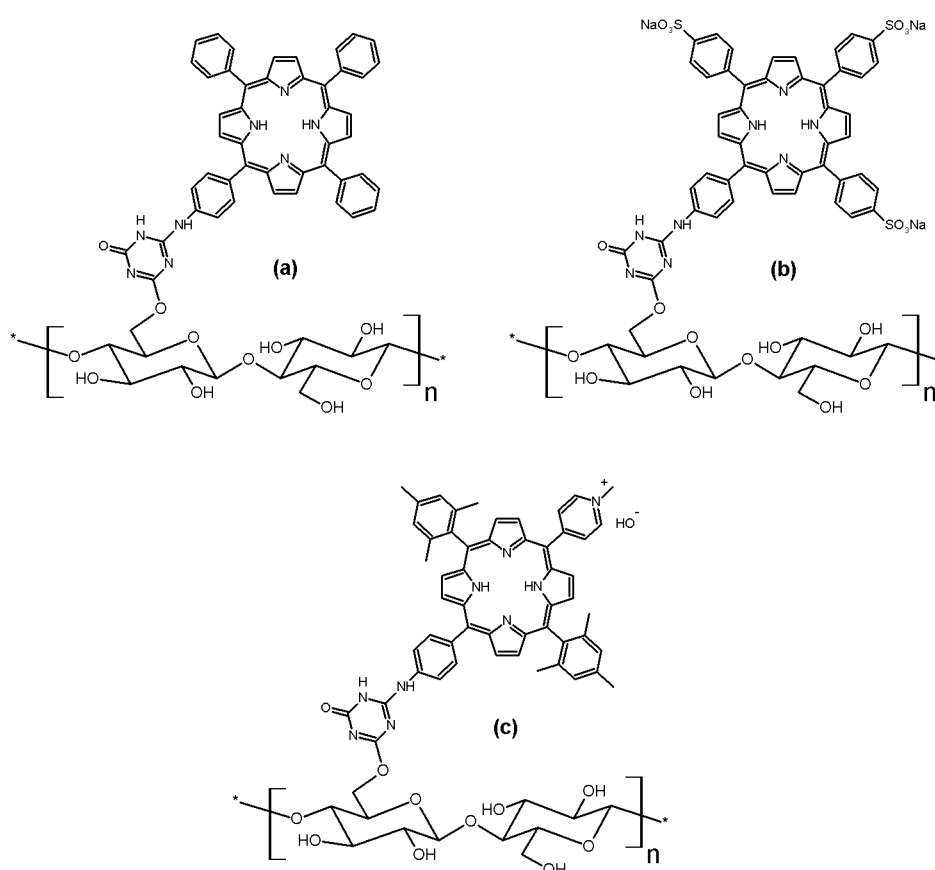


Figure 74 : Surfaces cellulosiques triazinyl *méso*-arylporphyriniques, de nature (a) neutre, (b) anionique et (c) cationique.

Dans un deuxième temps, le greffage de *méso*-tritolylporphyrine sur de la cellulose modifiée par réaction de "Click-Chemistry" nous a permis d'élaborer des tissus triazolyl *méso*-tritolylporphyriniques (figure 75).

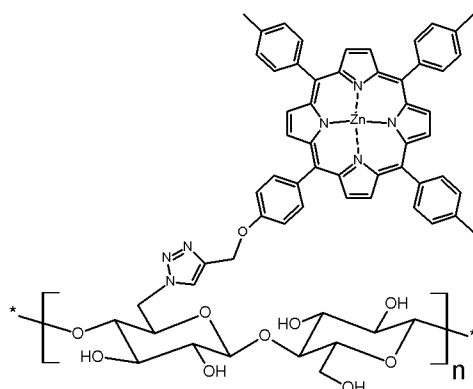


Figure 75 : Surface cellulosique triazolyl *méso*-tritolylporphyrinique.

Enfin, un dérivé de porphyrine naturelle (la protoporphyrine IX) a été couplé par un lien amide à la cellulose fonctionnalisée via une réaction de polymérisation radicalaire pour former des tissus porteurs de motifs protoporphyriniques (figure 76).

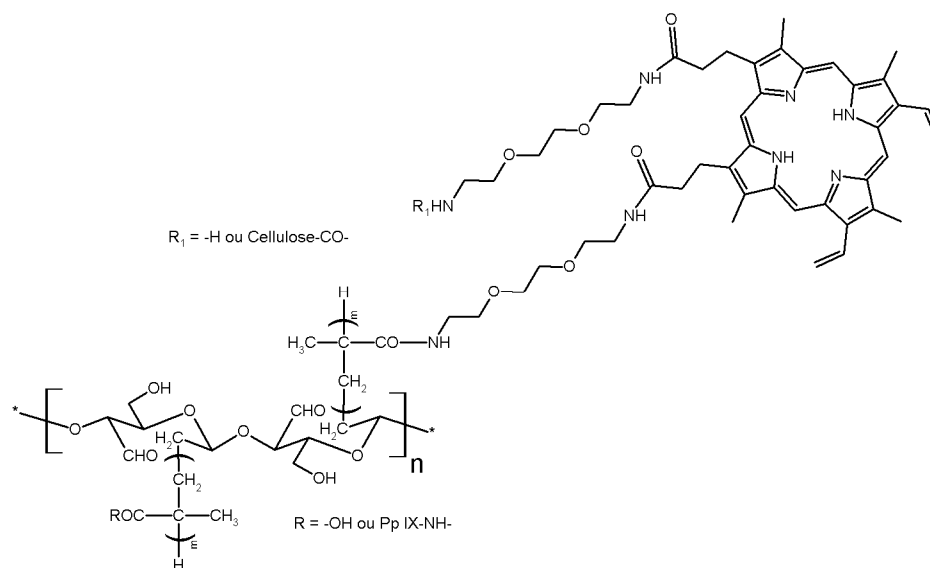


Figure 76 : Surface cellulosique protoporphyrinique.

Pour compléter ce travail, un protocole a été proposé pour évaluer l'activité antibactérienne de ces nouveaux matériaux, vis-à-vis des bactéries à Gram⁺ (*Staphylococcus aureus*) et des bactéries à Gram⁻ (*Escherichia coli*).

Chapitre II Tissus cellulosiques triazinyl *méso*-arylporphyriniques

1- Introduction

Comme nous l'avons indiqué à la fin du chapitre précédent, la première stratégie de fixation des photosensibilisateurs sur le coton a consisté à attacher le macrocycle porphyrinique sur le support par l'intermédiaire d'un dérivé 1,3,5-triazine, l'acide trichlorocyanurique (ATC). Le schéma général est présenté sur la figure 77.

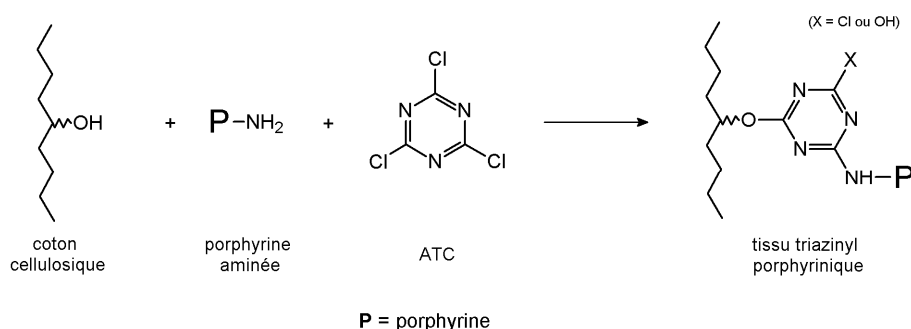


Figure 77 : Schéma général de l'élaboration des tissus triazinyl porphyriniques.

2- Stratégie de synthèse

En raison de la très forte réactivité de la triazine vis-à-vis de nucléophiles tels que les fonctions $-NH_2$ ou $-OH$, nous nous sommes attachés à synthétiser, tout d'abord, des porphyrines (anionique, neutre et cationique) substituées sur une position *méso* par un groupement aminophényl (figure 78). Deux méthodes de synthèse ont été effectuées, la synthèse de *méso*-arylporphyrines monofonctionnalisées pour l'élaboration du composé neutre **2** et anionique **3**, et la synthèse de *méso*-arylporphyrines *trans* hétéro di-fonctionnalisées pour celle du composé cationique **7**.

La 5-(4-nitrophényl)-10,15,20-triphényl porphyrine **1** résulte de la condensation du 4-nitrobenzaldéhyde, du benzaldéhyde et du pyrrole selon la méthode des "aldéhydes mixtes". Après réduction, la porphyrine aminée neutre **2**, la 5-(4-aminophényl)-10,15,20-triphényl porphyrine, est obtenue, conduisant par sulfonation à la porphyrine aminée anionique **3**, la 5-(4-aminophényl)-10,15,20-trisulfonatophényl porphyrine. Dans une autre approche, la 5-15-bis(mésityl)-10-(4-nitrophényl)-20-(4-pyridyl) porphyrine **5** est le résultat, selon la méthode "2+2", de la condensation du 4-nitrobenzaldéhyde, de la pyridine-4-carbaldéhyde et du *méso*-(mésityl)-dipyrrométhane **4**, lui-même obtenu à partir de mésitaldéhyde et de pyrrole. Une N-alkylation suivi d'une réduction permet d'obtenir la porphyrine aminée cationique **7**, la 5-(4-aminophényl)-10,20-bis(mésityl)-15-(N-méthylpyridinium) porphyrine.

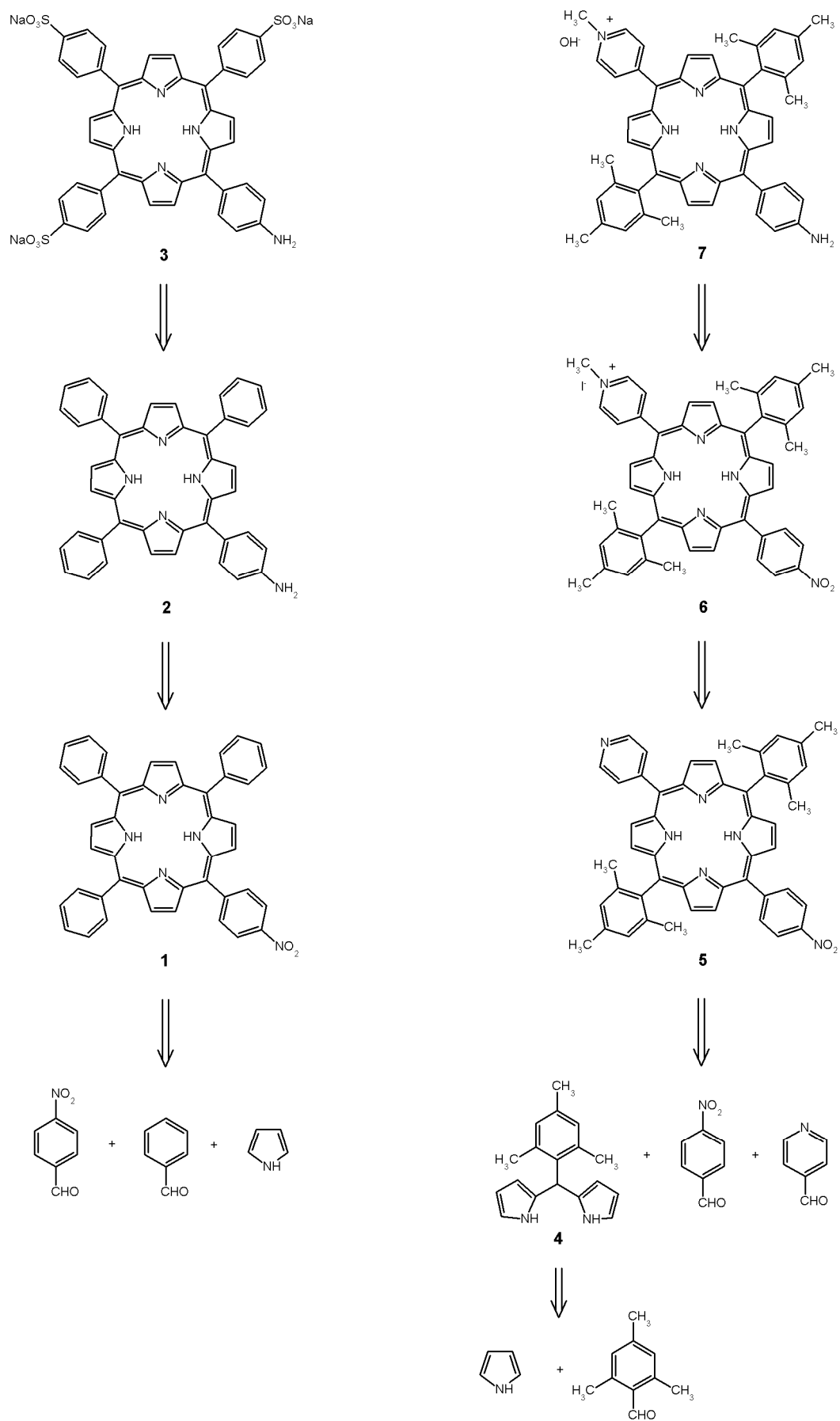


Figure 78 : Schéma rétrosynthétique des précurseurs porphyriniques aminés.

Afin de mettre en évidence le lien porphyrine-triazine et ainsi nous assurer de la faisabilité d'une telle stratégie, nous avons réalisé la synthèse des composés **8** à **11**. Les composés **8**, **9** et **11** sont obtenus par réaction de l'ATC avec la porphyrine neutre **2** ou cationique **7**, suivi de l'addition de pipéridine. Concernant le produit **10**, il est le produit de la réaction entre la porphyrine anionique **3**, l'ATC et la forme sulfanilate de sodium de l'acide sulfanilique. Enfin, les tissus triazinyl porphyriniques **12**, **13** et **14**, respectivement porteurs de la porphyrine neutre, anionique et cationique proviennent de l'intermédiaire porphyrine-triazine dichloré, intermédiaire très réactif et non isolé (figure 79).

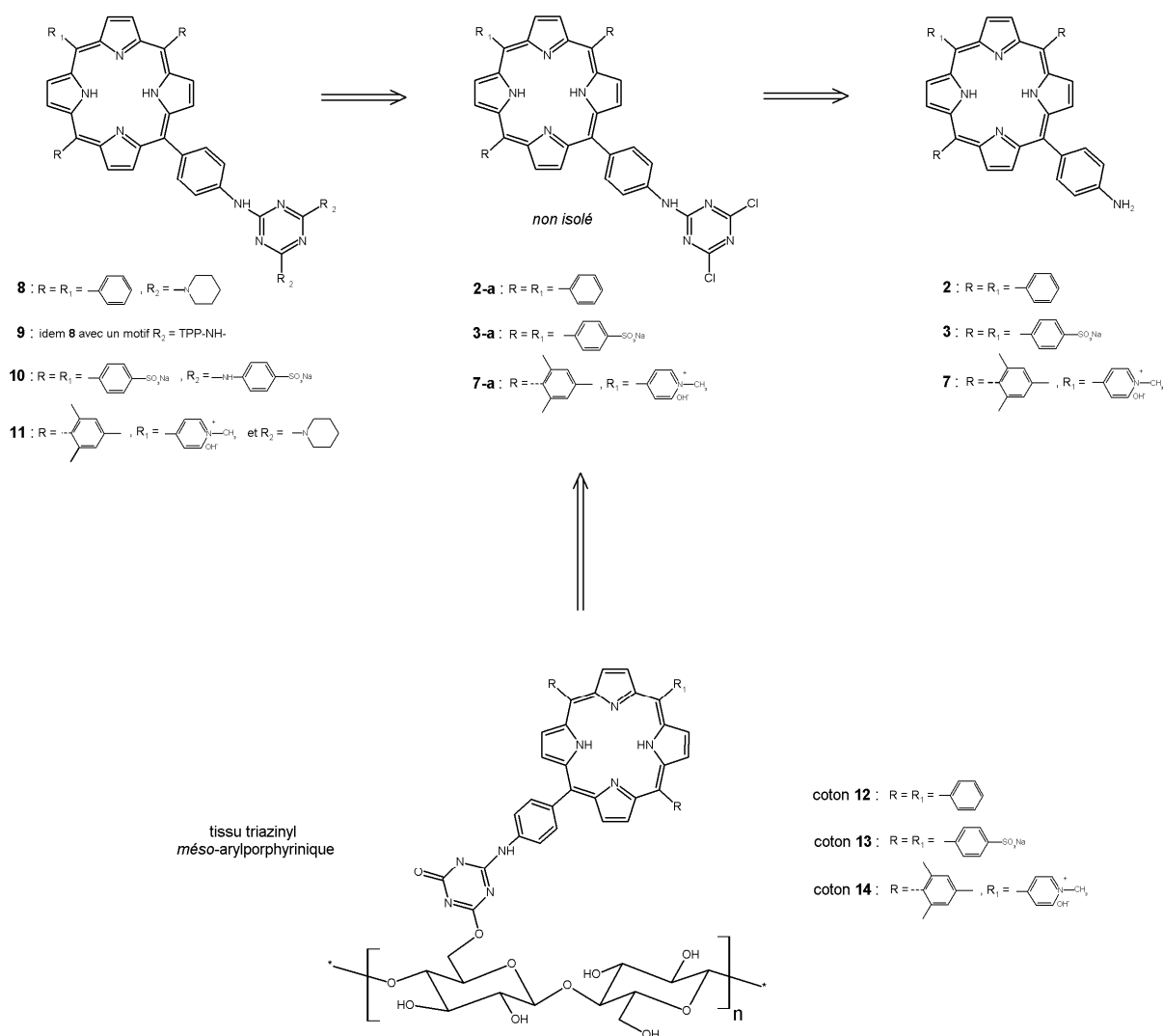


Figure 79 : Tissu cellulosique porphyrine-triazine.

3- Synthèse des photosensibilisateurs aminés

3-1- Synthèse de la mono-nitrophényl triphénylporphyrine (TPP-NO₂)

Nous avons utilisé la méthode des "aldéhydes mixtes" décrite par Little,^[61] présentée au chapitre précédent (figure 80).

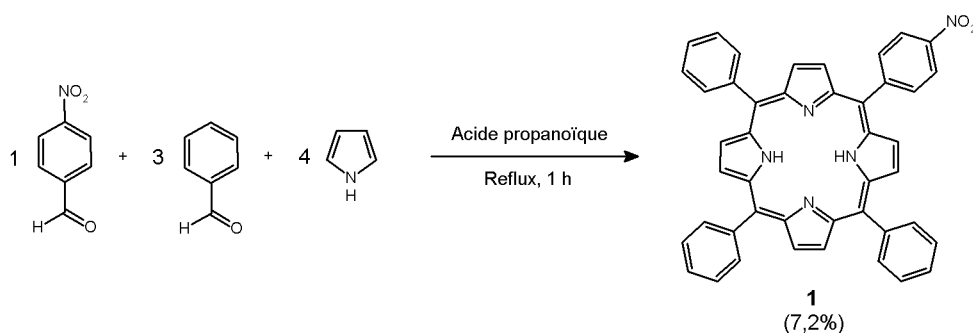


Figure 80 : Synthèse de la TPP-NO₂.

Le produit attendu est obtenu par condensation du pyrrole fraîchement distillé et du benzaldéhyde sur le 4-nitrobenzaldéhyde, en proportions stœchiométriques, dans l'acide propanoïque à reflux, jouant le rôle de solvant et de catalyseur. Le composé nitré **1** est isolé avec un rendement de 7,2%. Ce rendement, certes modeste, reste néanmoins conforme à celui attendu pour ce type de réaction et résulte de la formation des produits di-, tri- et tétra-nitrés ainsi que de la polymérisation concomitante du pyrrole.

3-2- Synthèse de la mono-aminophényl triphénylporphyrine (TPP-NH₂)

Une simple réduction de la porphyrine nitrée correspondante **1** a été effectuée par le système chlorure d'étain/acide chlorhydrique en présence d'acide acétique à 70-80 °C (figure 81).

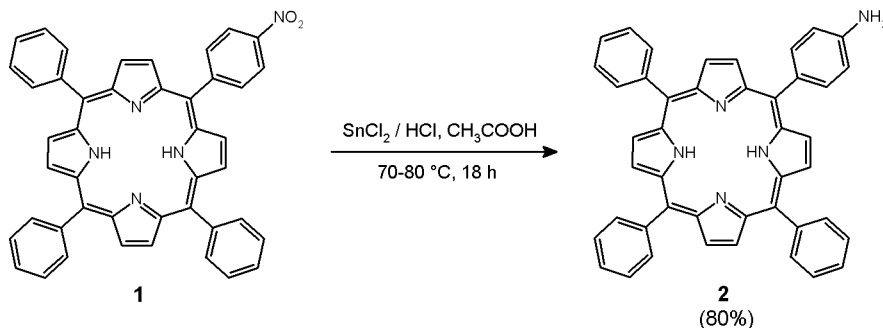


Figure 81 : Synthèse de la TPP-NH₂ par réduction de la TPP-NO₂.

Après neutralisation avec une solution de soude, le composé **2** est isolé sans purification avec un rendement de 80%. Ce résultat est conforme à celui observé dans la littérature par Kruper et coll.^[143]

3-3- Synthèse de la porphyrine hydrosoluble anionique (TPPS-NH₂)

La porphyrine anionique hydrosoluble (TPPS-NH₂) est obtenue par la sulfonation par l'acide sulfurique des groupements phényles de la porphyrine aminée **2** (figure 82) au moyen d'une réaction de substitution électrophile aromatique (SE_{Ar}).

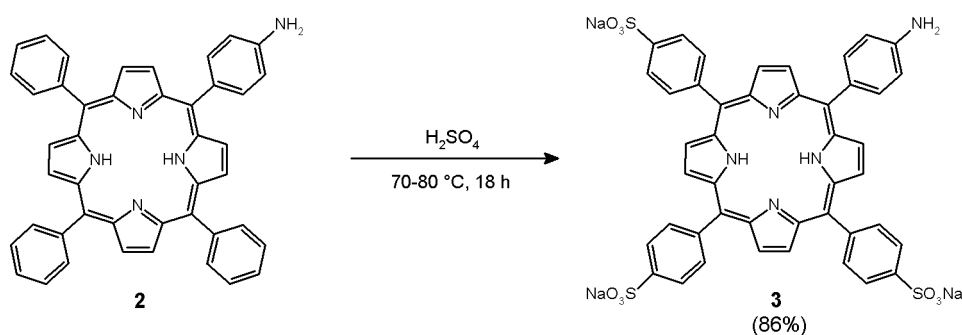


Figure 82 : Synthèse de la TPPS-NH₂ par sulfonation de la TPP-NH₂.

Après neutralisation par le carbonate de sodium et précipitation dans le méthanol, le composé **3** est obtenu avec un rendement de 86%.^[143]

3-4- Synthèse de la porphyrine aminée cationique *trans*

3-4-1- Préparation du dipyrrométhane

Dans le but d'obtenir la porphyrine aminée cationique *trans* **7** (figure 78), nous nous sommes orientés vers la synthèse du *méso*-(mésityl)-dipyrrométhane **4** (figure 83) en utilisant la méthode de Lindsey,^[71] décrite précédemment. Nous avons choisi de synthétiser un dipyrrométhane encombré pour éviter au maximum les phénomènes de scrambling (détaillés sur la figure 41), favorisant la formation des isomères *trans* lors de la synthèse de la porphyrine **5**.^[73]

^[143] Kruper W.J, Chamberlin T.A., Kochanny M., *J. Org. Chem.*, **1989**, 54, 2753-2756.

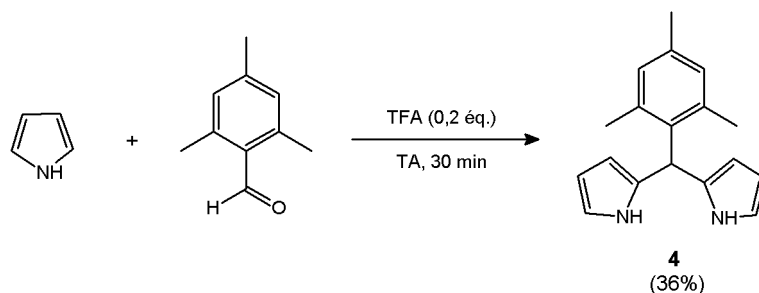


Figure 83 : Synthèse du *méso*-(mésityl)-dipyrrométhane.

Dans un premier temps, on fait réagir un excès de pyrrole fraîchement distillé avec le mésitaldéhyde. Une quantité catalytique d'acide trifluoroacétique est alors ajoutée et après disparition de l'aldéhyde de départ, le dipyrrométhane **4** est isolé avec un rendement de 36%. A noter que les recristallisations successives ne nous ont pas permis d'obtenir de meilleur rendement, conformément aux résultats présentés dans la littérature.^[71]

3-4-2- Obtention du composé aminé cationique *trans*

Le schéma général de synthèse de la *trans* porphyrine **7** hétéro di-fonctionnalisée est présenté sur la figure 84. Le précurseur porphyrinique **5** est obtenu par la méthode classique de Lindsey^[63] en faisant réagir, en milieu CH_2Cl_2 à température ambiante, le dipyrrométhane **4** sur la pyridine-4-carbaldéhyde et le 4-nitrobenzaldéhyde, dans des proportions stœchiométriques. Le porphyrinogène intermédiaire est oxydé par le *p*-chloranil pour mener à la porphyrine **5** avec un rendement modeste mais acceptable (18,2%) pour ce type de réaction, lié à la formation de *trans* di-nitro et *trans* di-pyridyl porphyrine. Ce résultat est comparable à ceux reportés dans la littérature pour la synthèse de porphyrine *trans* non symétrique hétéro di-fonctionnalisée.^[144] Après une N-alkylation de l'extrémité aryl pyridine par l'iodure de méthyle (3 heures en milieu DMF à température ambiante), la porphyrine cationique **6** attendue est isolée avec un rendement de 94%.^[145] Enfin le composé **7** a été obtenu, comme le composé **2** par réduction de la fonction nitro par le système $\text{SnCl}_2/\text{HCl}/\text{CH}_3\text{COOH}$, avec un rendement de 90%.

^[144] Ravikanth M., Strachan J-P., Li F., Lindsey J.S., *Tetrahedron*, **1998**, 54, 7721-7734.

^[145] Casas C., Saint-Jalmes B., Loup C., Lacey J., Meunier B., *J. Org. Chem.*, **1993**, 58, 2913-2917.

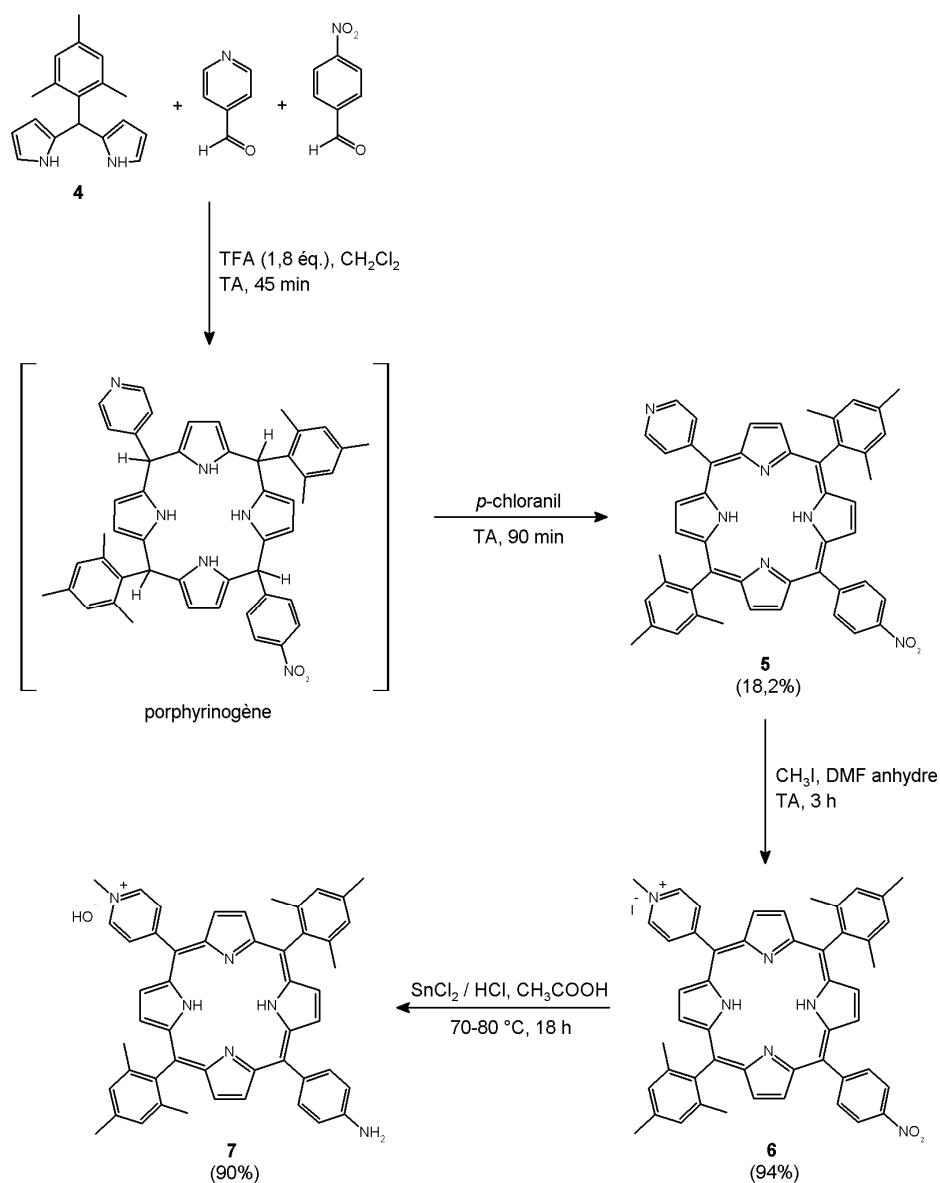


Figure 84 : Synthèse de la *trans* porphyrine 7.

3-5- Caractérisations

Les porphyrines synthétisées ont été caractérisées par spectroscopie UV-Visible, spectrométrie de masse et RMN du proton.

3-5-1- Spectroscopie UV-Visible

Les spectres des composés triphénylporphyriniques **1**, **2** et *trans* porphyriniques **5**, **6** et **7** ont été réalisés dans le chloroforme alors que celui du produit sulfoné **3** a été effectué dans le méthanol. Les spectres des porphyrines bases libres sont de type *étio* et présentent une forte bande d'absorption (bande de Soret) vers 420 nm et quatre autres bandes d'intensité plus faible vers 516, 552, 590 et 648 nm, notées respectivement QIV, QIII, QII et QI. Les résultats sont reportés au tableau 3.

Tableau 3 : Bandes caractéristiques des spectres UV-Visible des composés **1**, **2**, **3**, **5**, **6** et **7**.
 λ_{max} (nm) ; coefficient d'absorption molaire, ϵ ($\times 10^{-3} \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) à 25 °C.

Composés	Soret	QIV	QIII	QII	QI	$\epsilon_{\text{II}}/\epsilon_{\text{I}}$
1 ^a	420 (241)	516 (12,2)	552 (7,1)	591 (4,4)	647 (3,1)	1,42
2 ^a	421 (369)	517 (14,0)	554 (7,6)	591 (4,4)	648 (4,0)	1,10
3 ^b	416 (354)	514 (16,6)	552 (10,1)	590 (5,8)	648 (4,8)	1,21
5 ^a	419 (363)	515 (18,6)	550 (7,6)	590 (5,6)	648 (3,9)	1,44
6 ^a	424 (158)	520 (14,2)	565 (11,7)	592 (6,7)	655 (7,1)	0,94
7 ^a	424 (76)	523 (14,0)	572 (7,2)	595 (5,4)	656 (4,7)	1,15

(a): CHCl₃, (b) : MeOH.

Le spectre de la porphyrine **6** (figure 85) présente une légère distorsion, par rapport aux spectres classiques de type *étio*, des bandes I et II conduisant à un spectre atypique avec une bande QI d'intensité supérieure à QII ($\epsilon_{\text{II}}/\epsilon_{\text{I}} < 1$). Cette inversion du rapport $\epsilon_{\text{II}}/\epsilon_{\text{I}}$ a déjà été observée dans notre laboratoire pour des porphyrines hydroxylées.^[113b]

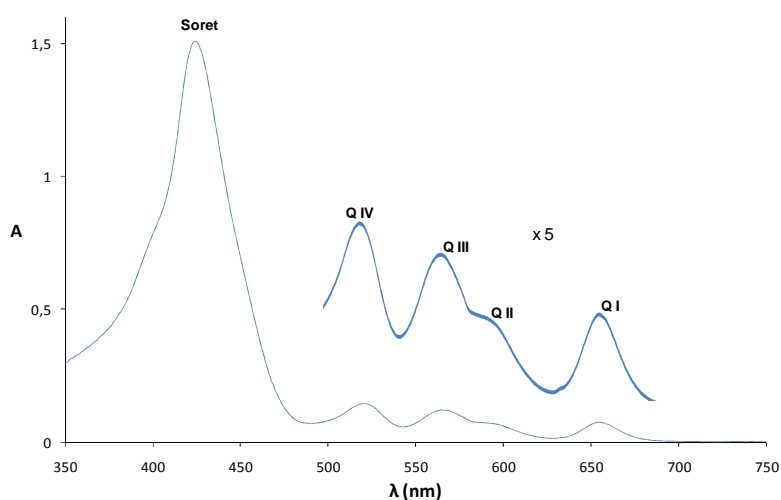


Figure 85 : Spectre UV-Visible du composé **6** dans le chloroforme ($C = 9,35 \cdot 10^{-6} \text{ M}$).

Pour la porphyrine sulfonée **3**, un effet hypochrome est caractérisé par un déplacement de la bande d'absorption de Soret (plus large) vers le bleu par rapport au spectre du produit référence **2**. Cette caractéristique spectrale, accentuée en milieux aqueux, témoigne d'un phénomène d'agrégation (stacking) de type H, H-aggregate ou "face to face".^[146] Le même phénomène a été observé en solution aqueuse sur des porphyrines glycosylées et cationiques, synthétisées dans notre laboratoire.^[112,113b]

^[146] Sugimoto T., Sada K., Tateishi Y., Suzuki T., Sei Y., Yamaguchi K., Shinkai S., *Tetrahedron Lett.*, **2005**, 46, 5347-5350.

Pour les porphyrines cationiques **6** et **7**, un important effet bathochrome (déplacement dans le rouge) est observé pour toutes les bandes d'absorptions par rapport au spectre du produit référence **5**. Nous pouvons noter également une bande de Soret très élargie (caractéristique des porphyrines cationiques), conséquence d'un phénomène d'agrégation également mais de type J, J-aggregate ou "edge to edge".^[146] Cette observation peut sembler contradictoire avec la précédente, mentionnant un effet hypochrome des porphyrines cationiques en solution aqueuse, mais elle peut s'expliquer par le rôle prépondérant que joue le solvant sur les phénomènes d'agrégation.

3-5-2-Spectrométrie de masse

Pour les composés neutres **1**, **2** et anionique **3**, les spectres MALDI (tableau 4) montrent le pic quasi-moléculaire $[M+H]^+$ attendu tandis que pour les composés cationiques **6** et **7**, le spectre donne l'ion $[M-X]^+$ où X représente le contre-ion.

Tableau 4 : Spectrométrie de masse des composés **1** à **7** (a : MALDI, b : ESI).

Composés	Masse monoisotopique calculée (Da)	Masse de l'ion observé (uma)
1 ^a	659,23	660,07 $[M+H]^+$
2 ^a	629,26	630,11 $[M+H]^+$
3 ^a	935,07	936,09 $[M+H]^+$
4 ^a	264,16	263,03 $[M-H]^+$
5 ^b	744,32	745,33 $[M+H]^+$
6 ^a	886,25	759,20 $[M-I]^+$
7 ^a	746,37	729,20 $[M-OH]^+$

(a): MALDI, (b) : ESI.

Le spectre de la *trans* porphyrine cationique aminée **7** est présenté sur la figure 86.

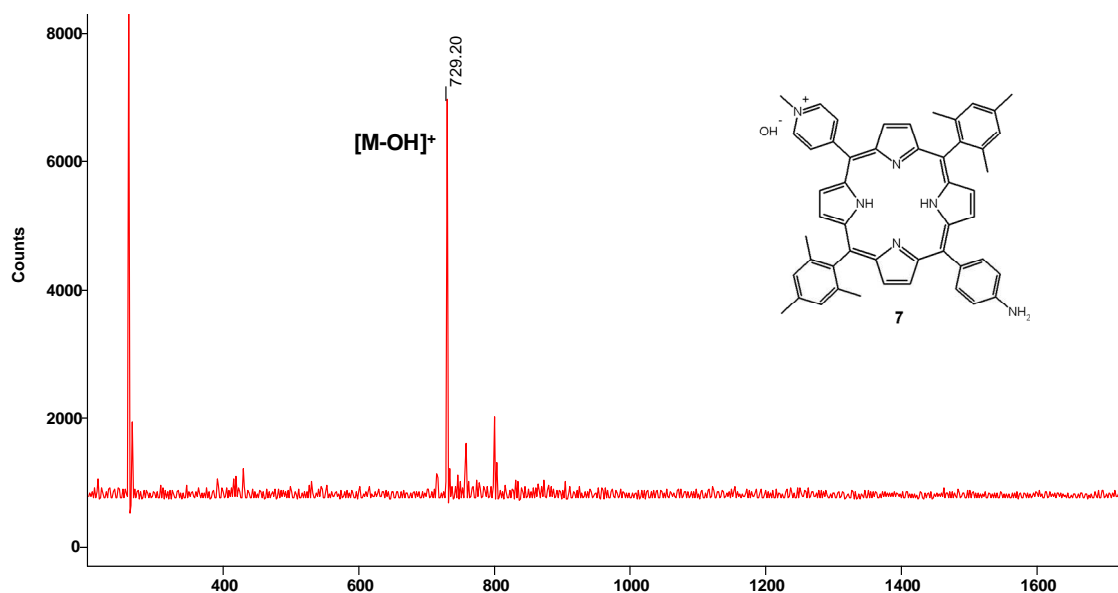


Figure 86 : Spectre de masse MALDI du composé **7**.

3-5-3- RMN du proton

Les spectres de résonance magnétique nucléaire du proton des triphénylporphyrines **1**, **2** et **3** ont été enregistrés à la fréquence de 400 MHz, dans le chloroforme deutéré pour les composés **1**, **2** et dans le diméthylsulfoxyde deutéré pour le composé **3**. D'une manière générale, le spectre RMN ^1H de ces *méso*-aryltriphénylporphyrines se compose de trois groupes de signaux (figure 87) ; les protons β -pyrroliques vers 8,80 ppm, les protons portés par les aryles et les phényles entre 8,60 et 7 ppm ainsi que les protons NH pyrroliques vers -2,80 ppm.

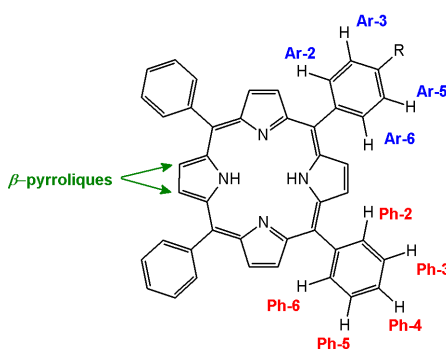


Figure 87 : Groupes des principaux signaux du spectre RMN ^1H (composés **1-3**).

L'étude détaillée des spectres RMN ^1H est présentée au tableau 5. Les protons β -pyrroliques résonnent vers 8,90 ppm sous la forme d'un doublet et singulet ou sous la forme d'un singulet, selon la conformation adoptée par le macrocycle en fonction de la substitution du noyau aryle. Les protons, portés par le noyau aryle, résonnent vers 8,40 ppm et vers 8,60 ppm pour les couples $\text{H}_{2,6}$ et $\text{H}_{3,5}$ avec des $J_3 = 8,5$ Hz pour le composé nitré **1** alors que pour les composés aminés **2** et **3**, ils résonnent vers

7,90 ppm et 7 ppm pour les couples H_{2,6} et H_{3,5} respectivement, avec des J₃ = 8,2 Hz. Ces différences s'expliquent par le fait que les protons H_{3,5} en ortho d'un groupement mésomère attracteur (NO₂, cas du composé **1**) sont beaucoup plus déblindés par rapport aux protons H_{2,6} ; contrairement à ceux qui sont en ortho d'un groupement mésomère donneur (NH₂, cas des composés **2** et **3**) qui, quant à eux sont blindés par rapport au couple de protons H_{2,6}. Quant aux protons phényliques, pour les composés **1** et **2**, les protons H_{2,6} résonnent à 8,21 ppm (J₃ de l'ordre de 7 - 7,5 Hz) alors que les protons H_{3,4,5} vers 7,75 ppm (J₃ = 7,3 Hz). Pour le composé **3**, les protons phényliques H_{3,5} résonnent à 8,20 ppm avec des J₃ = 8,0 Hz (le proton en position 4 étant substitué par un groupement sulfonyle) et se trouvent déblindés par rapport au proton H_{2,6} qui résonnent quant à eux à 8,07 Hz (J₃ = 8,0 Hz) ; ce déblindage est du à la substitution des protons phényliques en position 4 par un groupement sulfonyle qui exerce un effet mésomère attracteur sur les protons en ortho (couple H_{3,5}). Enfin, les protons des NH pyrroliques internes, se situant dans le cône d'anisotropie de la porphyrine, sont fortement blindés à -2,80 ppm.

Tableau 5 : RMN ¹H des porphyrines **1**, **2** et **3**.

H	1 ^a	2 ^a	3 ^b
<u>Pyrrole</u>			
H _β	8,89 d (4,8) - 8,86 s 8,73 d (4,8)	8,94 d (4,7) - 8,84 d (4,7) - 8,83 s _{él.}	8,98 d (4,5) - 8,92 d (4,5) - 8,83 s
NH _{int.}	-2,78 s _{él.}	-2,75 s _{él.}	- 2,86 s _{él.}
<u>Aryle</u>			
H _{3,5}	8,62 d (8,5)	7,04 d (8,2)	7,02 d (8,2)
H _{2,6}	8,39 d (8,5)	7,99 d (8,2)	7,89 d (8,2)
<u>Phényle</u>			
H _{2,6}	8,21 d (6,8)	8,21 d (7,6)	8,07 d (8,0)
H _{3,4,5}	7,76 d (7,3)	7,74 d (7,4)	-
H _{3,5}	-	-	8,20 d (8,0)

(a) : CDCl₃, (b) : d₆-DMSO; δ en ppm, figure, (J en Hz).

Les spectres des porphyrines *trans* **5**, **6** et **7** ont été réalisés dans le chloroforme deutéré. Le spectre RMN ¹H se compose de six groupes de signaux (figure 88) ; les protons β-pyrroliques entre 8,80 et 8,60 ppm, les protons portés par les aryles et les pyridyles entre 9,70 et 7 ppm, les protons méta

portés par les mésityles vers 7,20 ppm, les protons des CH₃ N-méthylpyridinium vers 5 ppm, les protons des CH₃ ortho et para portés par les mésityles entre 2,60 et 1,70 ppm ainsi que les protons NH pyrroliques vers -2,60 ppm.

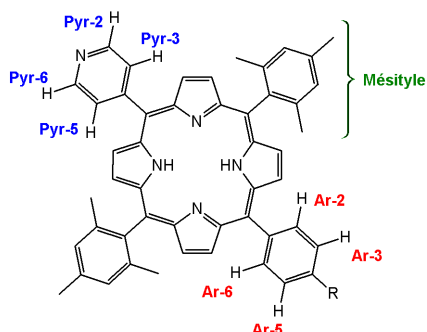


Figure 88 : Groupes des principaux signaux du spectre RMN ¹H (composés *trans* **5-7**).

L'étude détaillée des spectres RMN ¹H des *trans* mésitylporphyrines est présentée au tableau 6. Les protons β-pyrroliques résonnent entre 8,90 et 8,60 ppm sous la forme d'un doublet et singlet ou sous la forme de plusieurs doublets et d'un singlet ou encore sous la forme de plusieurs doublets uniquement, selon la conformation adoptée par le macrocycle en fonction de la substitution du noyau aryle et pyridyle. Les protons H_{2,6} pyridyles résonnent à 8,95 ppm ($J_3 = 5,1$ Hz), plutôt déblindés (composé **5**) du à l'effet inductif attracteur de l'hétéroatome en α tandis que ceux des composés **6** (9,36 ppm, $J_3 = 6,2$ Hz) et **7** (9,67 ppm) sont d'autant plus déblindés car l'azote du noyau pyridyle est chargé positivement, l'effet attracteur s'en trouve augmenté. Pour les protons pyridyles H_{3,5} l'observation est identique, ils résonnent à 8,11 ppm ($J_3 = 5,1$ Hz) pour **5** et à 8,73 ppm ($J_3 = 6,2$ Hz) pour **6** et **7**, valeurs plutôt élevées par la présence d'un hétéroatome au sein du cycle. Pour les protons aryles, les couples H_{3,5} résonnent à 8,55 ppm et les couples H_{2,6} à 8,33 ppm avec des $J_3 = 8,4$ Hz concernant les produits nitrés. Pour le composé **7**, l'observation est identique que précédemment ; il y a un blindage pour les deux couples de protons mais beaucoup plus important pour les H_{3,5} (6,99 ppm) que les H_{2,6} (7,91 ppm) avec des $J_3 = 8,2$ Hz. Pour les trois composés, on retrouve les signaux des protons portés par le groupement mésityle, à savoir les H méta à 7,18 ppm, les H porté par les CH₃ para à 2,56 ppm et les H porté par les CH₃ ortho à 1,76 ppm. A noter que les protons du CH₃ N-méthylpyridinium résonnent quant à eux vers 5 ppm pour les composés cationiques **6** et **7**. Enfin, les protons NH pyrroliques internes, se situant dans le cône d'anisotropie de la porphyrine, sont fortement blindés vers -2,70 ppm.

Tableau 6 : RMN ¹H des porphyrines **5**, **6** et **7** dans CDCl₃.

H	5	6	7
<u>Pyrrole</u>			
H_β	8,69 d (4,6) - 8,68 s _{él.} 8,63 d (4,6)	8,87 d (4,1) - 8,78 d (4,8) - 8,69 d (4,7) 8,64 d (4,7)	8,84 d (4,7) - 8,68 s 8,61 d (4,7)
NH_{int.}	-2,73 s _{él.}	-2,69 s _{él.}	-2,58 s _{él.}
<u>Pyridyle</u>			
H_{2,6}	8,95 d (5,1)	9,36 d (6,2)	9,67 s _{él.}
H_{3,5}	8,11 d (5,1)	8,73 d (6,2)	8,73 d (6,2)
N-CH₃	-	4,88 s	5,03 s
<u>Aryle</u>			
H_{3,5}	8,55 d (8,4)	8,55 d (8,4)	6,99 d (8,2)
H_{2,6}	8,33 d (8,4)	8,31 d (8,4)	7,91 d (8,3)
<u>Mésityle</u>			
H méta	7,18 s	7,19 s	7,18 s
CH₃ para	2,56 s	2,56 s	2,54 s
CH₃ ortho	1,76 s	1,74 s	1,73 s

δ en ppm, figure, (J en Hz).

Le spectre RMN ¹H de la *trans* porphyrine **5** est présenté sur la figure 89.

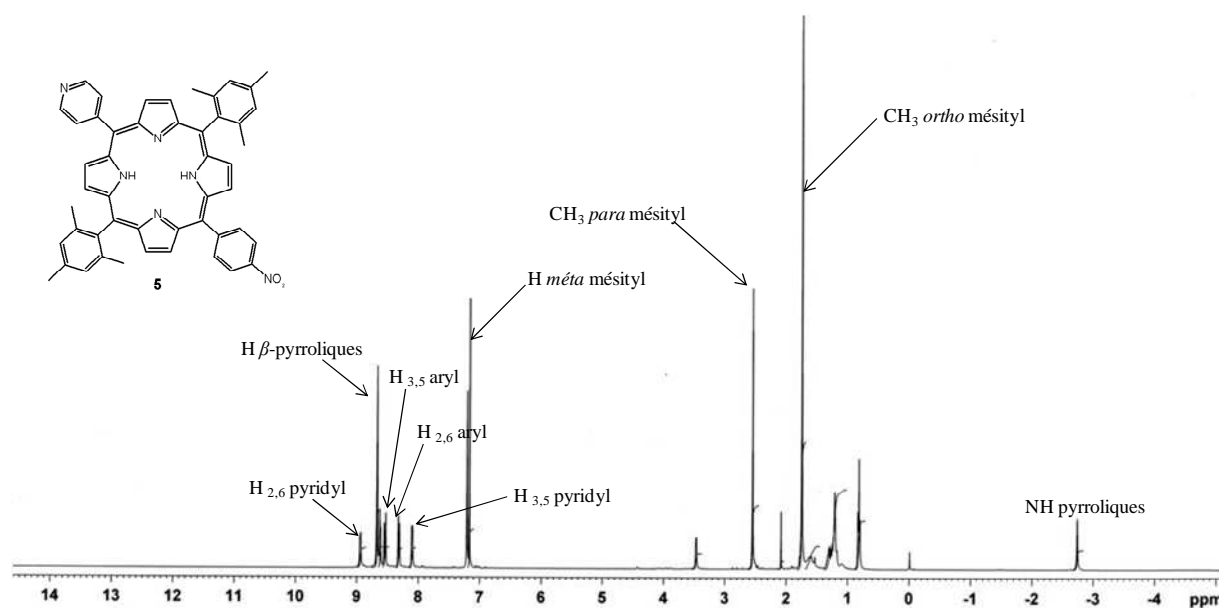


Figure 89 : Spectre RMN ^1H de la *trans* porphyrine **5**.

4- Formation du lien porphyrine-triazine

Avant d'élaborer les tissus triazinyl porphyriniques et étant donné que l'intermédiaire triazinique est très réactif et non isolable, nous avons voulu nous assurer de la formation du complexe porphyrine-triazine. Pour cela, nous avons utilisé 2 réactifs aminés différents pour la substitution totale du cycle triazine ; la pipéridine dans le cas des porphyrines **2** et **7** et le sulfanilate de sodium pour la porphyrine **3**. Avant de présenter la synthèse et la caractérisation des produits **8** à **11**, nous nous proposons de présenter brièvement quelques aspects de la chimie de l'ATC.

4-1- L'acide trichlorocyanurique (ATC)

4-1-1- Propriétés

Les dérivés 1,3,5-triazine sont connus depuis le début du 19^e siècle. Leurs domaines d'application sont très répandus et concernent aussi bien les industries pharmaceutiques, textiles et du caoutchouc. Ils sont également utilisés comme pesticides, colorants, explosifs ou encore agents actifs de surface. La chimie des triazines a fait l'objet de nombreuses revues.^[147] Parmi les dérivés triazine connus, l'acide trichlorocyanurique revêt d'une connaissance particulière en raison de la réactivité régiosélective en fonction de la température des atomes de chlore vis-à-vis de nucléophiles (figure 90).

^[147] (a) Smolin E.M., Rapoport L., *Inter. New York, NY*, **1959**; (b) Mur V.I., *Russ. Chem. Rev.*, **1964**, 33, 92-103; (c) Quirke M.E., Katritzky A.R., Rees C.W., *Comprehensive Heterocyclic Chemistry*; Ed. Pergamon: New York, NY, **1984**, 3, 457-530; (d) Comins D.L., O'Connor, Katritzky A.R., *Advances in Heterocyclic Chemistry*; Ed. Academic: New York, NY, **1988**, 44, 243; (e) Bartholomew D., Boulton A.J., *Comprehensive Heterocyclic Chemistry II*; Ed. Pergamon: Oxford, **1996**, 6, 575; (f) Giacomelli G., Porcheddu A., De Luca L., *Curr. Org. Chem.*, **2004**, 8, 1497-1519; (g) Blotny G., *Tetrahedron*, **2006**, 62, 9507-9522.

De plus, ce réactif est disponible commercialement à très faible coût et associé à des applications de plus en plus attractives.

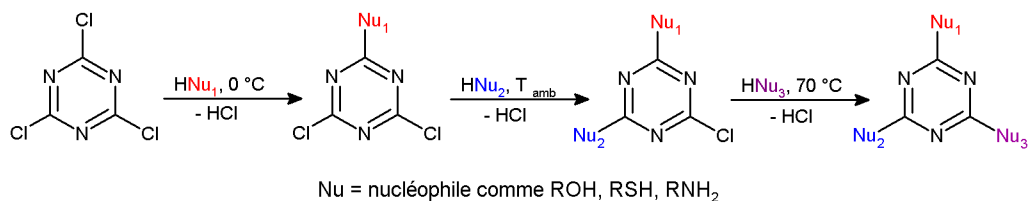


Figure 90 : Réactivité thermo-dépendante de l'ATC.

Le déplacement facilité des atomes de chlore de l'ATC par une variété d'agents nucléophiles, en présence d'un accepteur de chlorure d'hydrogène (comme les carbonates et bicarbonates de sodium, les hydroxydes ou les amines tertiaires), fait de ce réactif un composé de choix pour la préparation de mono-, di- et tri-substitué 1,3,5-triazine.

Des règles empiriques, basées sur les observations expérimentales, ont pu être établies ; la monosubstitution des chlores s'effectue à 0 °C ou à température plus faible, la disubstitution à température ambiante et enfin la trisubstitution aux plus hautes températures, 60 °C et au-delà. Ce contrôle de la substitution des atomes de chlores par la température, autrement dit cette réactivité thermo-dépendante, amène un large éventail de possibilité dans les synthèses multi-étapes. Ce modèle de substitution dépend également de la structure du nucléophile (basicité, facteurs stériques et nucléophilie), des substituants déjà présent sur le cycle triazine et de la nature du solvant employé.

4-1-2- Quelques applications

L'intérêt croissant de l'ATC en synthèse organique s'explique dans sa capacité à activer des réactions, mettant en jeu la transformation de groupes fonctionnels, telles que des réactions de déshydratation, d'halogénéation, d'interconversion de groupes fonctionnels (activation d'acides carboxyliques ou réarrangement de Beckmann sur des oximes), d'oxydation, de réduction ou encore de protection-déprotection.

4-1-2-1- Déshydratation

En 1980, Olah et coll.^[148] ont reporté la préparation de nitriles à partir d'amides primaires (figure 91) dans le DMF. Récemment, la conversion de divers formamides en isonitriles en présence de base, activée par irradiation micro-ondes et par l'ATC a été étudiée.^[149]

^[148] Olah G.A., Narang S.C., Fung A.P., Gupta B.G.B., *Synthesis*, **1980**, 12, 657-658.

^[149] Porcheddu A., Giacomelli G., Salaris M., *J. Org. Chem.*, **2005**, 70, 2361-2363.

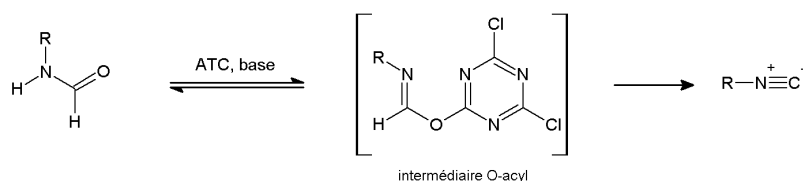


Figure 91 : Synthèse d'isonitrile à partir de formamide activée par l'ATC.

4-1-2-2- Halogénéation

Bien que Sandler ^[150] ait utilisé l'ATC pour la préparation de chlorures d'alkyle à partir de leurs alcools correspondants, Giacomelli ^[151] a considérablement amélioré la réaction de chloration par l'utilisation simultanée de l'ATC et du DMF (figure 92). En 2003, Blotny ^[152] a également présenté la préparation des chlorures de sulfonyle.

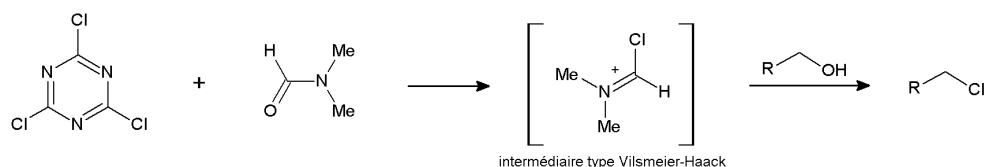


Figure 92 : Chloration d'alcools par le système ATC/DMF.

4-1-2-3- Interconversion de groupes fonctionnels

L'activation des acides carboxyliques mettant en jeu l'ATC est l'exemple le plus couramment rencontré. A cet effet, l'intermédiaire 2,4,6-triacyloxy-1,3,5-triazine sous l'action de diverses amines, de diazométhane ou encore d'azoture de sodium a permis l'obtention d'amides, ^[153] de diazocétones, ^[154] ou encore d'acyl azides, ^[155] respectivement (figure 93).

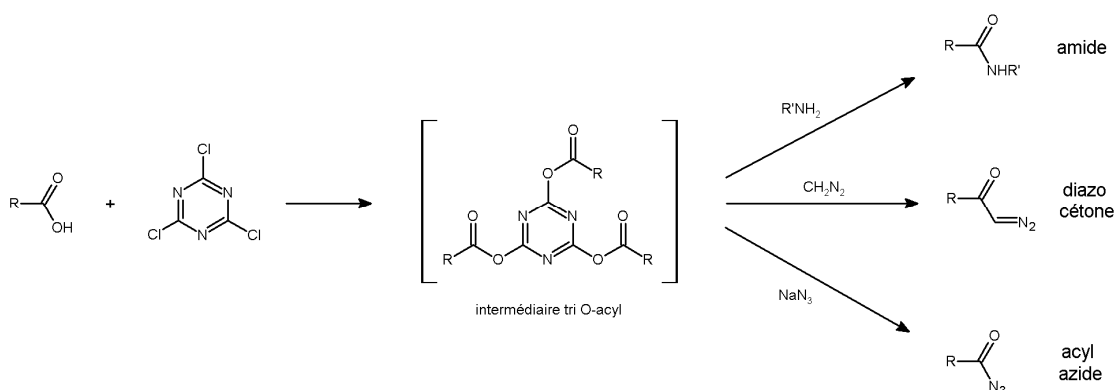


Figure 93 : Transformation d'acide carboxylique par l'intermédiaire de l'ATC.

^[150] Sandler S.R., *J. Org. Chem.*, **1970**, 35, 3967-3970.

^[151] De Luca L., Giacomelli G., Porcheddu A., *Org. Lett.*, **2002**, 4, 553-555.

^[152] Blotny G., *Tetrahedron Lett.*, **2003**, 44, 1499-1501.

^[153] Rayle H.L., Fellmeth L., *Org. Process Res. Dev.*, **1999**, 3, 172-176.

^[154] Forbes D.C., Barrett E.J., Lewis D.L., Smith M.C., *Tetrahedron Lett.*, **2000**, 41, 9943-9947.

^[155] Bandgar B.P., Pandit S.S., *Tetrahedron Lett.*, **2002**, 43, 3413-3414.

4-1-2-4- Oxydation/Réduction

De Luca et coll.^[156] ont préparé une variété d'aldéhydes, de cétones et d'amino aldéhydes N-protégés par oxydation d'alcools correspondants, méthode alternative à l'oxydation de Swern. La réduction d'acides carboxyliques en alcools correspondants dans le système borohydrure de sodium/eau en présence d'ATC a été reportée par Falorni.^[157]

4-1-2-5- Protection/Déprotection

Une méthode efficace de protection sélective d'alcool primaire par un groupement formyle a été mis au point par De Luca et coll.^[158] utilisant l'ATC et le DMF en présence de fluorure de lithium.

D'après les exemples cités, l'attractivité de ce composé en synthèse organique n'est plus à démontrer. Ses applications sont multiples notamment dans la synthèse de dendrimères et de complexes supramoléculaires ou encore dans la synthèse en phase solide.^[159, 160]

4-2- Porphyrine neutre-triazine-pipéridine

4-2-1- Monomère porphyrinique

Le composé neutre **8** est obtenu après réaction entre la porphyrine aminée **2**, la triazine et la pipéridine (figure 94).

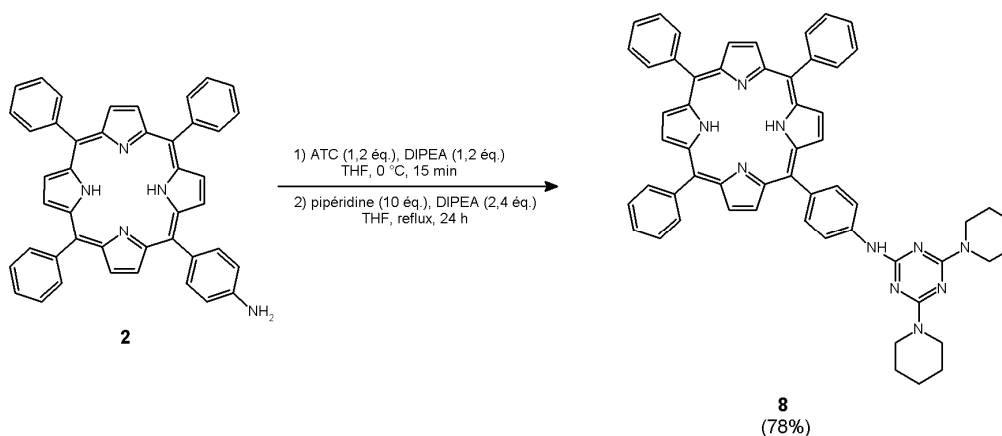


Figure 94 : Monomère porphyrine neutre 2-triazine-pipéridine.

A 0 °C, l'ATC est ajouté à une solution porphyrinique **2**. Un atome de chlore est substitué après seulement 15 minutes pour former le produit dichloré triazinique monosubstitué (intermédiaire

^[156] De Luca L., Giacomelli G., Porcheddu A., *J. Org. Chem.*, **2001**, 66, 7907-7909.

^[157] Falorni M., Porcheddu A., Taddei M., *Tetrahedron Lett.*, **1999**, 40, 4395-4396.

^[158] De Luca L., Giacomelli G., Porcheddu A., *J. Org. Chem.*, **2002**, 67, 5152-5155.

^[159] Steffensen M.B., Hollink E., Kuschel F., Bauer M., Simanek E.E., *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.*, **2006**, 44, 3411-3433.

^[160] Carofiglio T., Schiorlin M., Tonellato U., *J. Porphyr. Phthalocya.*, **2007**, 11, 749-754.

très réactif non isolé). La substitution complète du cycle triazine est réalisée après action de la pipéridine, le composé **8** est isolé avec un rendement de 78%.^[161] L'utilisation d'une base, ici la diisopropyléthylamine ou DIPEA, a permis de neutraliser l'acide chlorhydrique libéré.

4-2-2- Dimère porphyrinique

Mettant en jeu la même réaction que précédemment, le dimère porphyrinique a été synthétisé (figure 95).

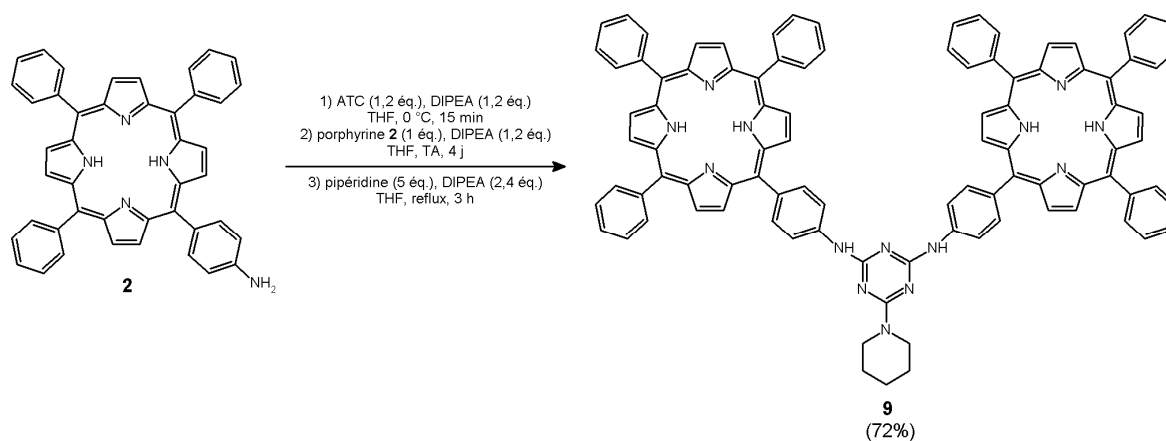


Figure 95 : Dimère porphyrinique **9**.

Le produit intermédiaire réactif monosubstitué, formé après 15 min à 0 °C, a cette fois-ci subi l'attaque d'un second équivalent de porphyrine aminée **2** durant 4 jours. Le dimère final **9**, après l'action de la pipéridine sur l'intermédiaire chloré triazinyl di-porphyrinique, est isolé avec un rendement de 72%.^[161]

4-3- Porphyrine sulfonée-triazine-sulfanilate de sodium

Selon le même principe que pour l'obtention du monomère et dimère neutre porphyrinique, le composé **10** est obtenu (figure 96) à partir de la porphyrine sulfonée **3**.

^[161] Carofiglio T., Varotto A., Tonellato U., *J. Org. Chem.*, **2004**, 69, 8121-8124.

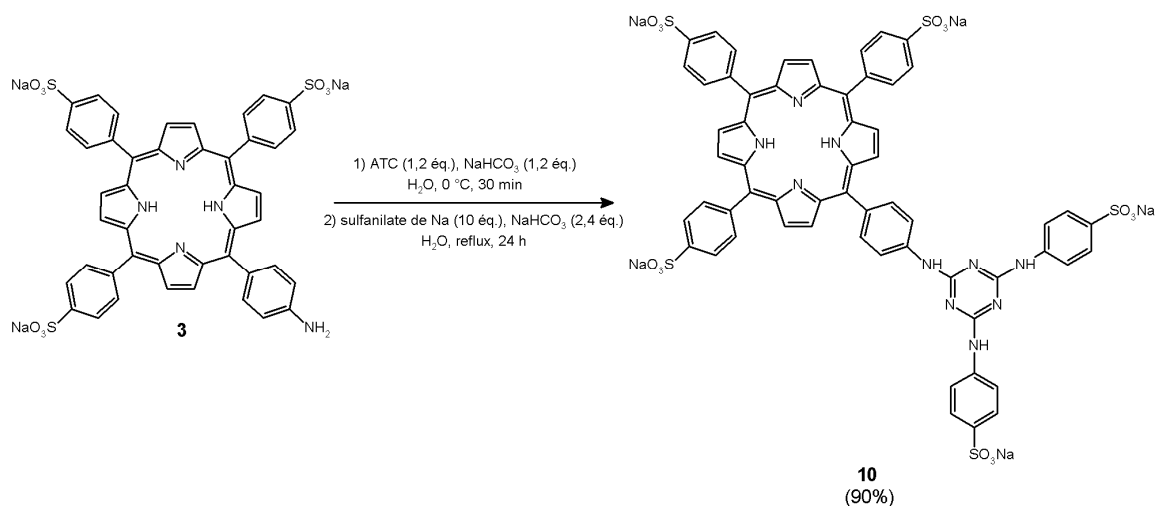


Figure 96 : Porphyrine sulfonée **3**-triazine-sulfanilate de sodium.

Le composé **3** étant soluble dans l'eau, nous avons choisi de réaliser la substitution nucléophile de la triazine en milieu aqueux en présence de sulfanilate de sodium et en utilisant le carbonate de sodium comme base. Le composé **10** est isolé avec un rendement de 90%.

4-4- Porphyrine cationique-triazine-pipéridine

La réaction entre la triazine et la porphyrine cationique **7** est réalisée de façon similaire à celle du composé **8** (figure 97). Le composé désiré **11** est isolé avec un rendement de 52%.

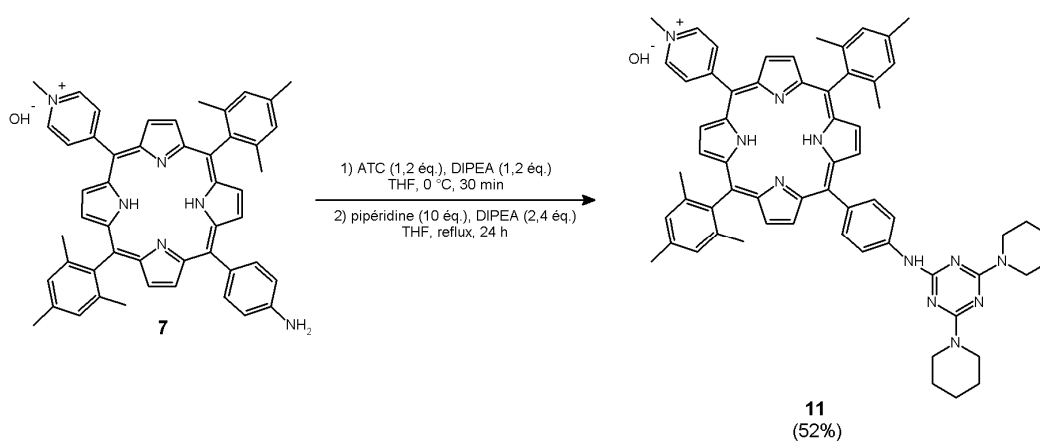


Figure 97 : Porphyrine cationique **7**-triazine-pipéridine.

4-5- Caractérisations

4-5-1- Spectroscopie UV-Visible

Les spectres UV-Visible des composés **8**, **9** et **11** ont été réalisés dans le chloroforme et celui du composé **10** dans le méthanol (tableau 7).

Tableau 7 : Bandes caractéristiques des spectres UV-Visible des composés **8**, **9**, **10** et **11**. λ_{\max} (nm) ; coefficient d'absorption molaire, ϵ ($\times 10^{-3} \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) à 25 °C.

Composés	Soret	QIV	QIII	QII	QI	$\epsilon_{\text{II}}/\epsilon_{\text{I}}$
8 ^a	420 (723)	516 (18,4)	552 (11,8)	591 (6,1)	647 (4,6)	1,33
9 ^a	421 (1047)	517 (46,3)	553 (29,3)	591 (15,5)	647 (12,5)	1,24
10 ^b	415 (254)	519 (10,4)	557 (7,0)	586 (4,8)	641 (3,4)	1,41
11 ^a	423 (146)	521 (12,7)	567 (11)	592 (8,2)	654 (6,6)	1,24

(a) : CHCl₃, (b) : MeOH.

Les spectres obtenus sont caractéristiques des spectres de type *étio*. Pour le composé **10**, un déplacement vers le bleu est observé comme pour le composé **3** (phénomène d'agrégation de type H). Notons que les valeurs des coefficients d'absorption molaire sont beaucoup plus importantes pour le composé **9** traduisant un effet hyperchrome. En effet, la présence de deux unités porphyriniques liées entre elles par un noyau triazine amène à un complexe hautement conjugué.

4-5-2- Spectrométrie de masse

Comme pour les précurseurs aminés, l'analyse montre un pic quasi-moléculaire $[\text{M}+\text{H}]^+$ pour **8**, **9** et **10** et $[\text{M}-\text{OH}]^+$ pour le composé cationique **11** (tableau 8).

Tableau 8 : Spectrométrie de masse des composés **8**, **9**, **10** et **11**.

Composés	Masse monoisotopique calculée (Da)	Masse de l'ion observé (uma)
8 ^a	874,42	875,14 $[\text{M}+\text{H}]^+$
9 ^a	1418,59	1419,22 $[\text{M}+\text{H}]^+$
10 ^a	1400,05	1401,09 $[\text{M}+\text{H}]^+$
11 ^b	991,54	974,67 $[\text{M}-\text{OH}]^+$

(a) : MALDI, (b) : ESI.

4-5-3-RMN du proton

D'une manière générale les spectres sont similaires à ceux obtenus pour les porphyrines bases libres correspondantes avec deux groupes de signaux supplémentaires ; les protons de la pipéridine pour **8**, **9** et **11** et les protons aromatiques du noyau sulfanyle pour **10**.

Les signaux caractéristiques sont :

- les protons β -pyrroliques entre 8,60 et 8,95 ppm ;
- les protons pyridyles à 8,73 ppm pour le couple $H_{3,5}$ et à 9,73 ppm pour le couple $H_{2,6}$ ainsi que les protons du CH_3 N-pyridinium à 5,05 ppm pour le composé **11** ;
- les protons phényles entre 7,70 et 8,20 ppm pour les composés **8-10** et les protons aryles entre 7,60 et 8,20 ppm ;
- les protons mésityles à 7,20 ppm pour les H méta, à 2,54 ppm pour les CH_3 para et à 1,73 ppm pour les CH_3 ortho concernant le composé **11** ;
- les protons pipéridyles entre 3,75 et 4 ppm pour les H_α et entre 1,60 et 1,70 ppm pour les $H_{\beta,\gamma}$ sous la forme d'un singulet concernant les composés **8, 9** et **11** ;
- les protons sulfanyles à 8,22 ppm pour le composé **10**.

Notons que pour le composé **9**, les protons NH pyrroliques intègrent pour 4 H mettant en évidence le dimère porphyrinique.

L'étude détaillée des spectres RMN 1H des complexes porphyrine-triazine est reportée au tableau 9.

Tableau 9 : RMN ¹H des porphyrines **8**, **9**, **10** et **11**

H	8 ^a	9 ^a	10 ^b	11 ^a
<u>Pyrrole</u>				
H_β	8,95 d (4,7) - 8,84 d (5,1) - 8,83 s	8,96 d (4,7) - 8,94 d (4,8) - 8,83 d (4,8) - 8,82 s	8,93 s 8,86 s	8,85 d (4,6) 8,67 s 8,62 d (4,6)
NH_{int.}	-2,75 s _{él.}	-2,76 s _{él.}	-2,89 s _{él.}	-2,60 s _{él.}
<u>Pyridyle</u>				
H_{2,6}	-	-	-	9,73 s _{él.}
H_{3,5}	-	-	-	8,73 s
N-CH₃	-	-	-	5,05 s
<u>Phényle</u>				
H_{2,6}	8,21 d (7,7)	8,20 m	8,22 d (7,9)	-
H_{3,4,5}	7,76 m	7,73 m	-	-
H_{3,5}	-	-	8,07 d (7,9)	-
<u>Aryle</u>				
H_{3,5}	8,14 d (8,4)	8,21 d (8,4)	7,85 m	8,05 d (8,2)
	8,0 d (8,4)	8,08 d (8,4)	7,60 m	7,93 d (8,2)
H_{2,6}				
NH	7,07 s _{él.}	7,4 s _{él.}	-	-
<u>Mésityle</u>				
H méta	-	-	-	7,20 s
CH₃ para	-	-	-	2,54 s
CH₃ ortho	-	-	-	1,73 s
<u>Pipéridyle</u>				
H_α	3,84 s	3,98 s	-	3,76 s
H_{β,γ}	1,66 s	1,73 s	-	1,57 s
<u>Sulfanyle</u>				
	-	-	8,22 m	-

(a) : CDCl₃, (b) : d₆-DMSO; δ en ppm, figure, (J en Hz).

Le spectre RMN ^1H du composé cationique pipéridyl triazinique **11** est présenté sur la figure 98.

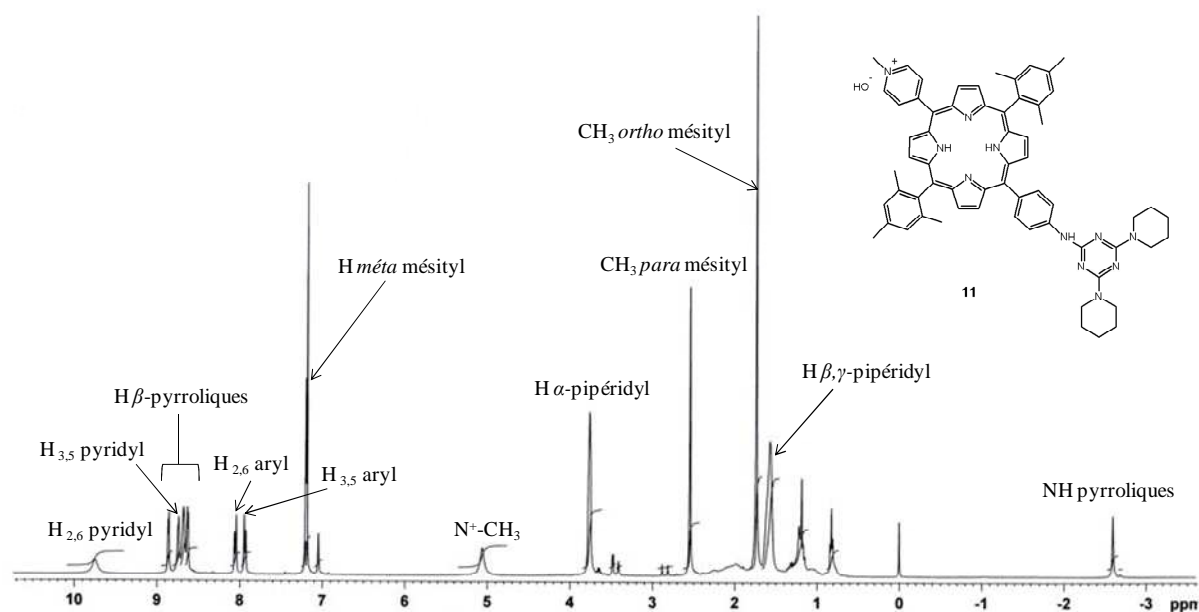


Figure 98 : Spectre RMN ^1H du composé cationique **11**.

La synthèse des composés **8** à **11** nous a permis de caractériser le lien porphyrine-triazine. L'intermédiaire porphyrinique triazinyl dichloré pour chaque précurseur aminé va pouvoir être engagé dans la réaction de greffage avec le tissu cellulosique.

5- Tissus triazinyl porphyriniques

Afin d'élaborer des tissus de coton (constitués de cellulose) porphyriniques, l'intermédiaire réactif porphyrine-triazine dichloré est tout d'abord formé, comme décrit précédemment. Dans un second temps, l'action du coton cellulosique *in situ* sur ce dernier va permettre la fixation de la porphyrine (figure 99). La réaction entre le motif cellulose-OH et l'ATC (substitué ou non) est similaire à celle avec un motif R-NH₂ (substitution nucléophile).

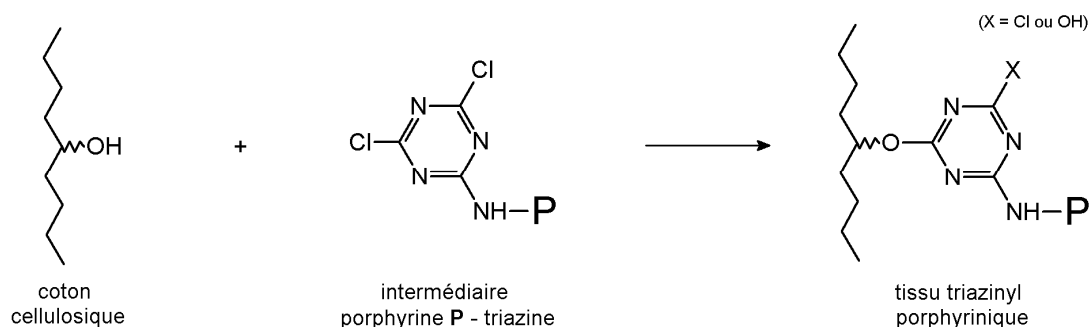


Figure 99 : Greffage du coton sur l'intermédiaire porphyrine-triazine.

5-1- Elaboration des tissus

L'élaboration des tissus à partir des précurseurs aminés est présentée sur la figure 100. Le précurseur aminé **2**, **3** ou **7** est mis en présence d'ATC à 0 °C ; après formation de l'intermédiaire porphyrine-triazine, le coton cellulosique (3,5 x 3,5 cm), préalablement traité en milieu basique, est ajouté au milieu réactionnel. Pour les porphyrines **2** et **7**, le greffage est effectué dans le THF en présence d'une base (DIPEA), alors que pour la porphyrine **3**, le greffage est réalisé en solution aqueuse en présence d'une solution saturée de NaHCO₃. Les tissus triazinyl porphyriniques **12**, **13** et **14** obtenus après 24 heures sont fonctionnalisés par la porphyrine neutre **2**, la porphyrine anionique **3** et la porphyrine cationique **7**, respectivement.

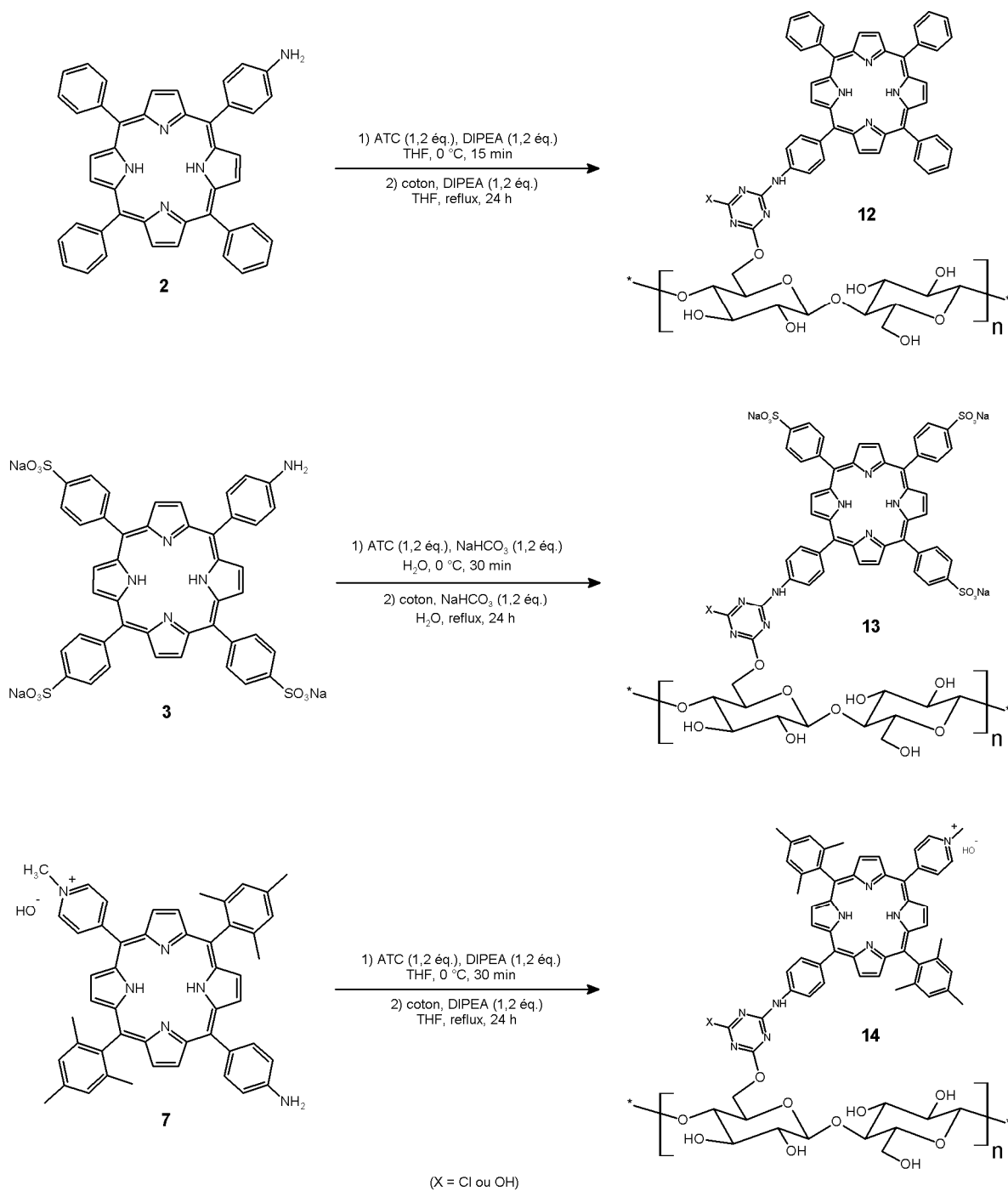


Figure 100 : Elaboration des tissus triazinyl porphyriniques.

Le taux de greffage des porphyrines sur le tissu a été déterminé par mesure de l'absorbance à 420 nm (bande de Soret) du photosensibilisateur restant en solution. Les résultats de la quantité d'actif par carré de coton et du taux de greffage obtenus pour les cotons **12**, **13** et **14** à partir des précurseurs aminés correspondants **2**, **3** et **7** sont présentés au tableau 10.

Tableau 10 : Dosage quantitatif par UV-Visible.

Porphyrine initiale	Cotons	Quantité initiale en porphyrine aminée	Quantité d'actif (par carré de coton ^a)	Taux de greffage (%)
2	12	17,5 μmol	10 μmol	57
3	13	11,2 μmol	8,2 μmol	73
7	14	14 μmol	7,5 μmol	54

(a) carré de 3,5 x 3,5 cm.

Les taux de greffage pour les cotons triazinyl porphyriniques varient de 54 à 73%. La quantité d'actif greffé est indépendante de la nature de la porphyrine (7,5 à 10 μmol). Ces valeurs sont à corréler avec les rendements obtenus pour la caractérisation du lien porphyrine-triazine présentés dans le chapitre précédent. En effet, le meilleur rendement avait été obtenu pour le composé **10** (90%) et le meilleur taux de greffage a également été obtenu pour ce même composé. La réactivité est donc influencée par la nature de la porphyrine.

5-2- Caractérisations des surfaces

Les surfaces obtenues ont pu être caractérisées par spectroscopie IR par réflectance (ATR-FTIR), UV-Visible par réflectance diffuse (DRUV), analyse thermogravimétrique (ATG) au laboratoire SPCTS de l'université de Limoges et par microscopie électronique à balayage (MEB) au service de microscopie électronique de l'université de Limoges.

5-2-1- IR par réflectance (ATR-FTIR)

Afin de mettre en évidence le caractère covalent de la liaison porphyrine-cellulose par l'intermédiaire du noyau triazine, les spectres ATR-FTIR ont tout d'abord été réalisés (figure 101).

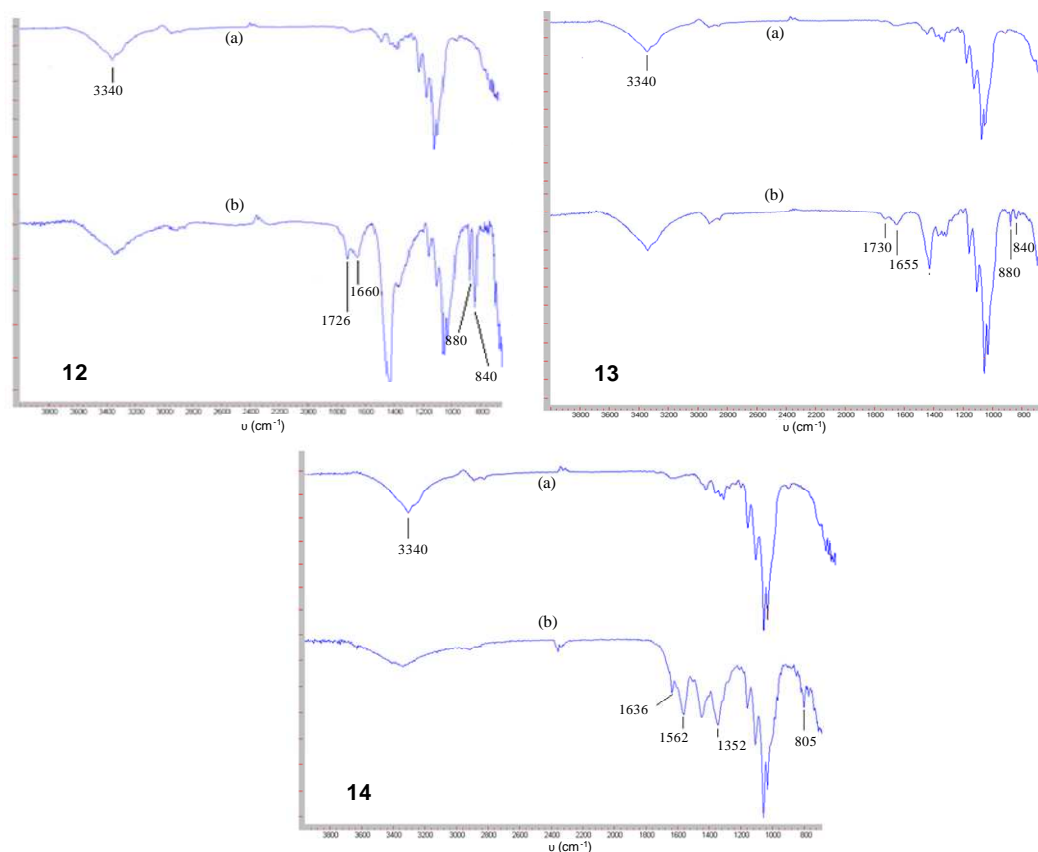


Figure 101 : Spectre ATR-FTIR ; (a) coton initial et (b) cotons modifiés.

Le spectre du coton initial (a) fait apparaître les signaux classiques de la cellulose ; 3340 cm^{-1} (ν_{OH}), 1430 cm^{-1} (ν_{CH}) et $1325, 1045\text{ cm}^{-1}$ ($\nu_{\text{CO}}, \delta_{\text{CO}}$). Sur les cotons modifiés, des signaux très caractéristiques ont été observés ; 1726 et 1660 cm^{-1} pour le coton **12**, 1730 et 1655 cm^{-1} pour le coton **13** et enfin 1636 et 1562 cm^{-1} pour le coton **14**. Ces valeurs sont relatives aux vibrations de liaison des fonctions amide ; en effet le dernier chlore du noyau triazine est substitué par un hydroxyle (présent dans le milieu réactionnel) amenant une fonction de type iminol qui est déplacée par tautomérie vers sa forme la plus stable, une forme amide cyclique (figure 102).

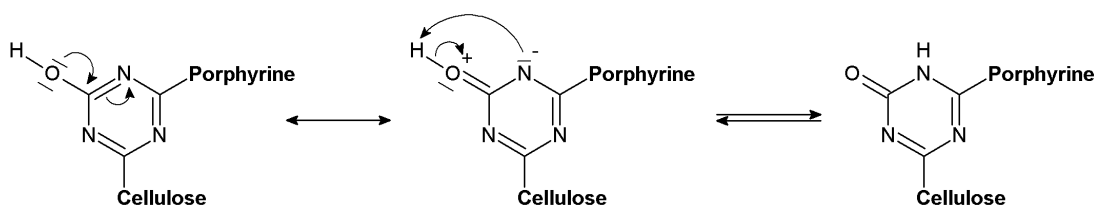


Figure 102 : Création d'un amide triazinique par tautomérie.

De plus, la présence d'un signal à 1352 cm^{-1} , caractéristique du groupement iminium, pour le coton **14** confirme la présence du groupement pyridinium. Les vibrations de déformation des doubles liaisons C=C aromatiques relatives aux macrocycles porphyriniques sont également présentes dans la zone $800\text{-}900\text{ cm}^{-1}$.

Ces observations permettent de confirmer le caractère covalent entre le photosensibilisateur et le coton cellulosique par l'intermédiaire du lien triazine.

5-2-2- UV-Visible par réflectance diffuse (DRUV)

La spectrophotométrie UV-Visible par réflectance diffuse (DRUV) est principalement utilisée pour caractériser des surfaces portant des chromophores. Utilisant une sphère d'intégration en polytétrafluoroéthylène (PTFE ou Teflon[®]), cette méthode permet de mesurer la lumière diffuse après absorption par le chromophore. L'analyse DRUV est présentée sur la figure 103.

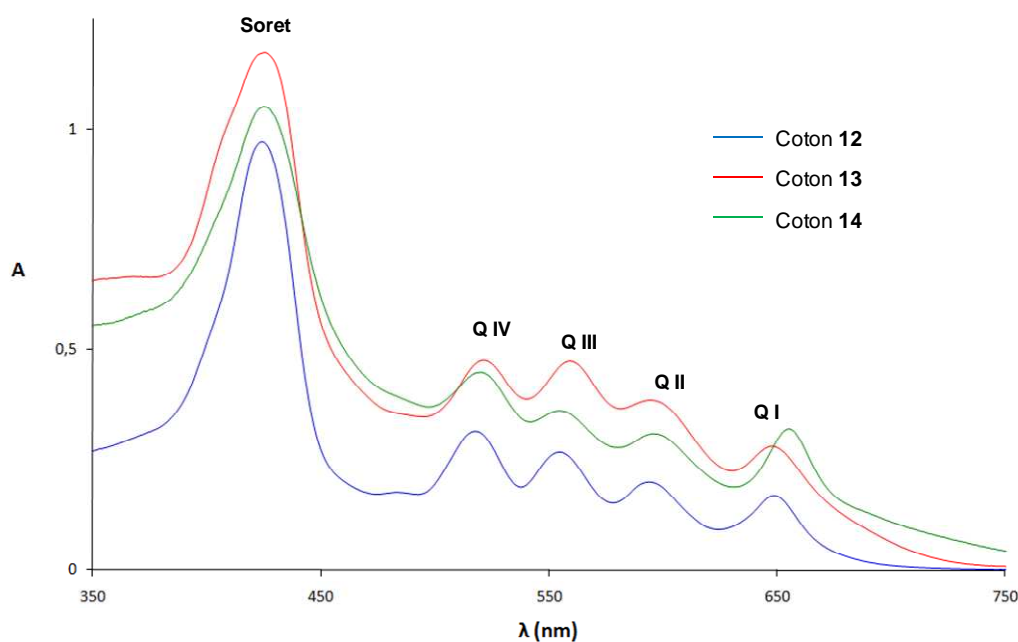


Figure 103 : Spectre UV-Visible par réflectance des tissus triazinyl porphyriniques.

Avec pour finalité la mise en évidence des porphyrines à la surface du matériel cellulosique, la spectroscopie UV-Visible a été réalisée pour les produits **12**, **13** et **14**. L'analyse montre des spectres similaires à ceux des composés **2**, **3** et **7** en solution. Les principaux signaux correspondant à l'absorption du photosensibilisateur ont été obtenus ; la bande de Soret dans la zone 420-430 nm et les bandes Q entre 510 et 650 nm. Les valeurs des maxima d'absorption des porphyrines libres en solution comparées à celle des porphyrines supportées sur la cellulose sont résumées au tableau 11.

Tableau 11 : Données électroniques des maxima d'absorption en UV-Visible.

Composés	Soret (nm)	Q (nm)
2^a	421	517, 554, 591, 648
coton 12	422	518, 555, 594, 649
3^b	416	514, 552, 590, 648
coton 13	425	521, 559, 594, 650
7^a	424	523, 572, 595, 656
coton 14	425	520, 557, 595, 655

(a) : CHCl₃ ; (b) : MeOH.

Les bandes maximales d'absorption du coton **13** sont déplacées dans le rouge par rapport au composé de référence **3**. Pour la bande de Soret, cette augmentation de 9 nm est la conséquence du caractère greffage covalent de la part du photosensibilisateur. La porphyrine anionique subit des phénomènes d'agrégation en solution de type "face to face" qui entraîne un déplacement vers le bleu, phénomènes qui ne sont plus observables une fois la porphyrine supportée à la cellulose.

L'absorption entre 510 et 650 nm (bandes Q) implique que la conformation plane du macrocycle à la surface du polymère n'est pas affectée. Cependant, quelques observations sont à corrélérer à la modification de l'état du photosensibilisateur (passant d'un état libre à un état supporté) :

- réduction du rapport bande de Soret/bandes Q, due à une perturbation au niveau des coefficients d'extinctions molaires (ϵ),
- élargissement des bandes d'absorption électronique (bande de Soret et bandes Q), attribué aux interactions entre électrons π du macrocycle aromatique et les fonctions hydroxyles libres présentes en surface du support cellulosique.

Ces différentes observations nous permettent d'établir une conformation possible du complexe porphyrine-cellulose mettant en évidence les interactions de type π (figure 104).

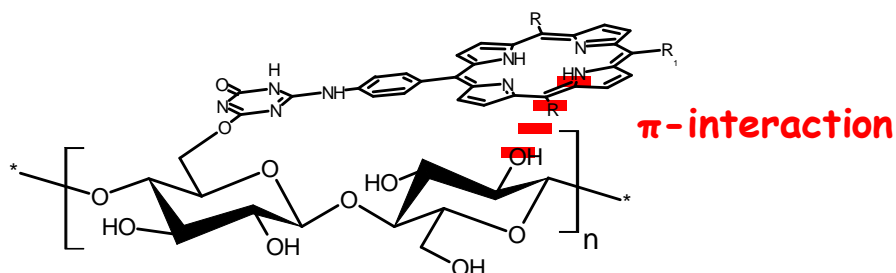


Figure 104 : Conformation possible du complexe porphyrine-cellulose.

Ces analyses montrent le changement d'état du photosensibilisateur (état supporté) et valident les conclusions de l'analyse ATR-FTIR quant à la présence du lien covalent entre les porphyrines et le polymère. Ces observations sont similaires avec celles reportées par Rahiman pour des porphyrines de vanadium encapsulées au sein d'une structure mésoporeuse à base de silice.^[162]

5-2-3- Analyse thermogravimétrique (ATG)

Nous avons entrepris les analyses ATG sur les surfaces cellulosiques modifiées. A cet effet, nous avons enregistré les variations de masse au cours d'un cycle thermique entre l'échantillon étudié et un corps témoin inerte (dépourvu d'effets thermiques, ici l'alumine). Les températures auxquelles interviennent ces pertes de masses constituent des informations importantes pour l'identification des phénomènes physico-chimiques impliqués, inhérent à la structure du polymère. Les courbes ATG des cotons modifiés **12**, **13** et **14** sont présentées sur la figure 105.

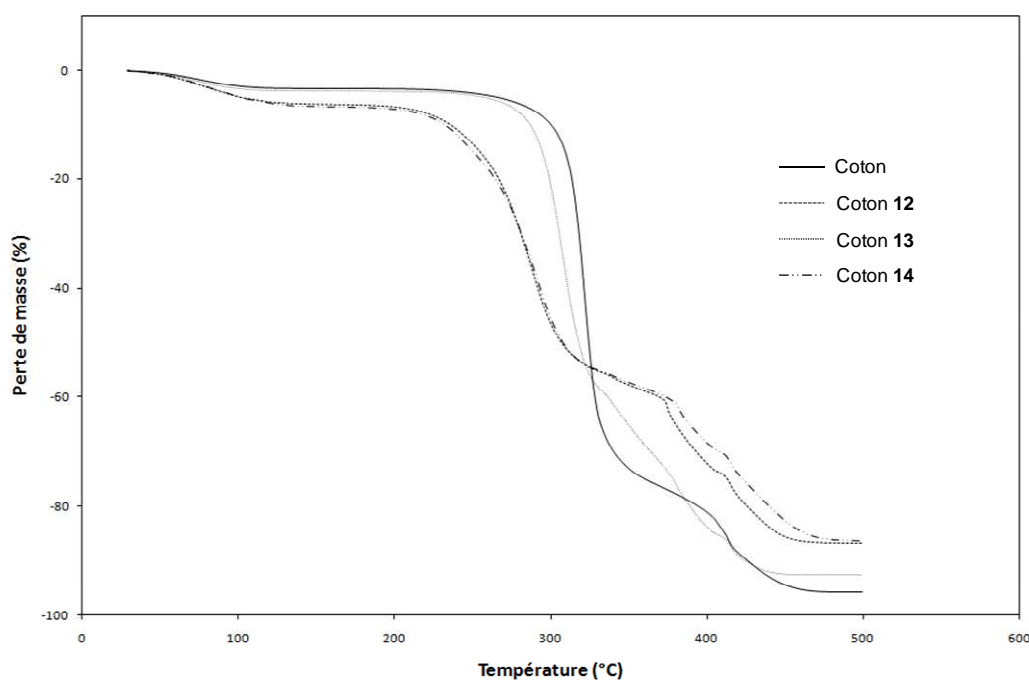


Figure 105 : Courbes ATG des tissus triazinyl porphyriniques.

Les courbes montrent que les modifications chimiques entraînent des variations quant à la stabilité thermique des surfaces. Jusqu'à 200 °C, la perte de masse correspond, dans un premier temps, à la déshydratation du matériel puis dépend du solvant utilisé lors du greffage ; en effet pour les cotons **12** et **14** (solvant organique utilisé) la perte de masse est plus prononcée. L'utilisation d'un solvant aqueux pour l'élaboration du coton **13** est sûrement à l'origine d'une modification au sein de la structure cellullosique amenant des différences quant à sa stabilité thermique. Aux plus hautes températures, la perte de masse s'effectue en plusieurs étapes et s'explique par la décomposition du

^[162]Rahiman A.K., Bharathi K.S., Sreedaran S., Rajesh K., Narayanan V., *Inorg. Chim. Acta*, **2009**, 362, 1810-1818.

photosensibilisateur, la coupure du lien triazine et la décomposition totale ou destruction du matériel. Globalement, le coton fonctionnalisé par les porphyrines est moins stable thermiquement que le coton initial ; le fort degré de compactage des fibres cellulosiques du coton pur peut expliquer ce résultat. Des résultats similaires, obtenus après greffage d'autres composés comme des ammoniums quaternaires sur le coton, montrant la diminution de la stabilité thermique ont également été observés.^[163]

5-2-4- Microscopie électronique à balayage (MEB)

La caractérisation par microscopie électronique à balayage (MEB) des tissus triazinyl porphyriniques a été réalisée et les photographies obtenues sont représentées sur la figure 106.

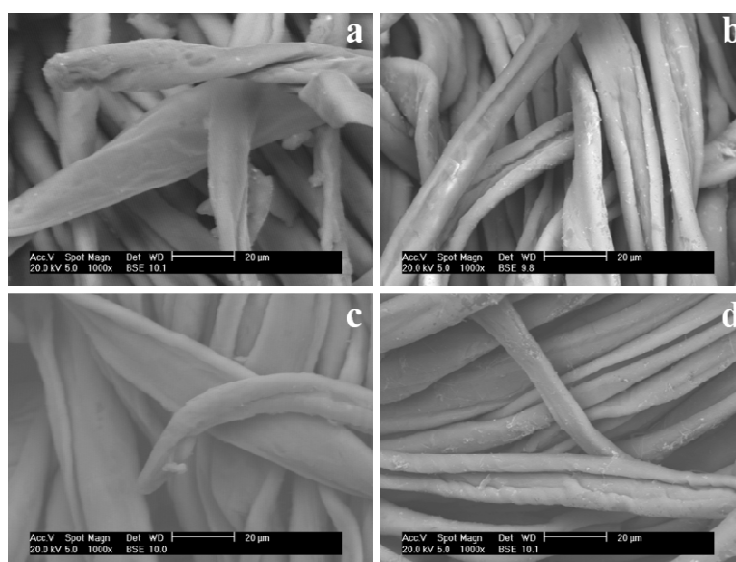


Figure 106 : Photographie MEB ; (a) coton initial, (b) coton **12**, (c) coton **13** et (d) coton **14**.

L'analyse des clichés montre que la modification chimique n'affecte pas significativement la structure des fibres cellulosiques car aucun phénomène de déchirement ou de destruction des fibres n'est observé. De plus, la morphologie initiale fibreuse du coton (diamètre, aspect général) est conservée.

^[163] Goel N.K., Rao M.S., Kumar V., Bhardwaj Y.K., Chaudhari C.V., Dubey K.A., Sabharwal S., *Radiat. Phys. Chem.*, **2009**, 78, 399-406.

6- Conclusions

Trois nouveaux types de tissus cellulosiques à motifs *méso*-arylporphyriniques ont été élaborés. L'utilisation de l'acide trichlorocyanurique comme agent de greffage s'est avérée être particulièrement intéressante en raison de sa bonne réactivité vis-à-vis de nucléophiles. De plus cette stratégie nous a permis de nous affranchir d'une activation chimique préalable du support cellulosique. Différentes porphyrines aminées (neutre, anionique et cationique) ont été synthétisées et greffées sur le coton cellulosique pour obtenir des tissus porphyriniques aux propriétés différentes. Les différentes analyses sur les tissus porphyriniques, particulièrement l'ATR-FTIR et le DRUV, nous ont permis de mettre en évidence le lien covalent (noyau triazine) entre le photosensibilisateur et la cellulose. De plus, l'analyse en MEB a montré que le greffage chimique n'avait aucune influence sur l'aspect général des fibres cellulosiques (aucune modification structurale du polymère).

Ces différents tissus ont été élaborés dans le but de pouvoir mettre en évidence une relation structure-activité lors de l'évaluation de l'activité antibactérienne de chaque produit et ainsi de pouvoir déterminer la structure du photosensibilisateur le plus efficace.

**Chapitre III Tissus cellulosiques
triazolyl *méso*-
tritolylporphyriniques**

1- Introduction

Dans cette seconde partie, la stratégie de fixation des photosensibilisateurs a consisté à attacher le macrocycle porphyrinique sur le coton par l'utilisation de la réaction dite de "Click-Chemistry". Cette méthodologie a nécessité, lors d'une première étape, l'activation chimique des tissus de coton (contrairement à ce qui a été décrit au chapitre précédent). Le schéma général est présenté sur la figure 107.

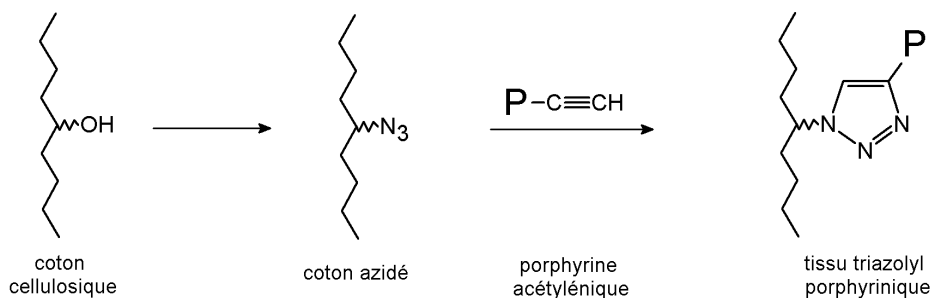


Figure 107 : Schéma général de l'élaboration des tissus triazolyl porphyriniques par "Click-Chemistry".

2- Stratégie de synthèse

Nous avons choisi de développer le concept "Click-Chemistry" pour l'élaboration de tissus porphyriniques qui nécessite la préparation d'un précurseur acétylénique (porphyrine) et d'un précurseur azidé (coton). Ainsi, une *méso*-tritolylporphyrine porteuse d'un alcyne terminal **17** est obtenue par métallation au zinc de la porphyrine base libre acétylénique **16** correspondante. Cette dernière est le résultat d'une propargylation réalisée sur la 4-hydroxyphényl tritolylporphyrine (TTP-OH) **15**, obtenue par condensation du 4-hydroxybenzaldéhyde, du para-tolualdéhyde et du pyrrole selon la méthode des "aldéhydes mixtes". Le coton azidé **18**, quant à lui, est obtenu par une réaction d'azidation du coton cellulosique avec le système CBr₄/PPh₃/NaN₃. Les tissus triazolyl porphyriniques **19** ont été obtenus par le couplage de la porphyrine acétylénique **17** avec le coton azidé **18** par réaction de "Click-Chemistry" (figure 108).

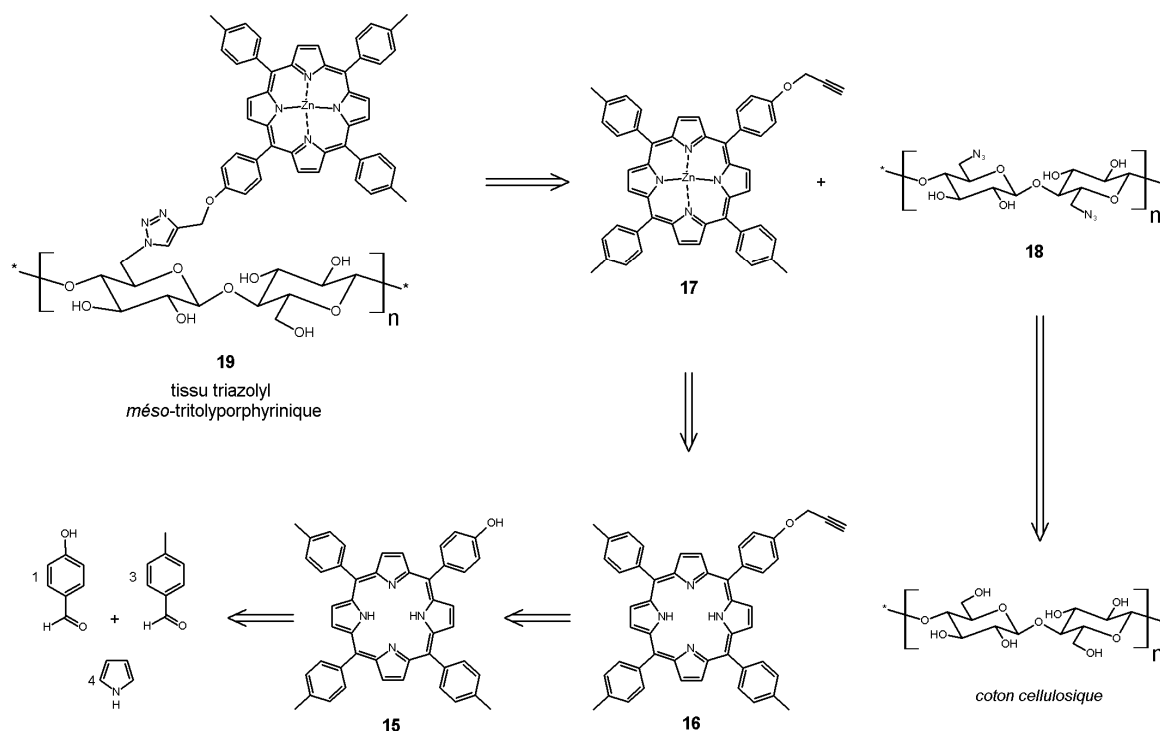


Figure 108 : Schéma rétrosynthétique mettant en jeu le concept "Click-Chemistry".

3- Synthèse du photosensibilisateur propargylé

3-1- Synthèse de la mono-hydroxyphényl tritolyloporphyrine (TTP-OH)

Ce précurseur a été synthétisé par la méthode des aldéhydes mixtes, déjà présentée au chapitre précédent pour la synthèse du composé **1** (figure 109).

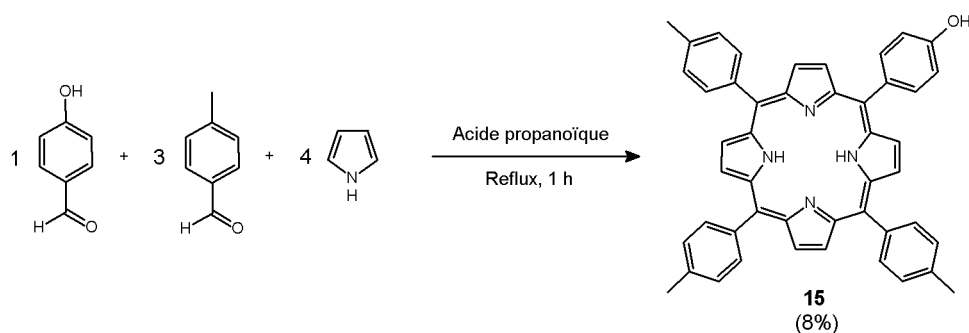


Figure 109 : Synthèse de la TTP-OH.

Le produit attendu est obtenu par condensation du pyrrole et du *para*-tolualdéhyde fraîchement distillés sur le 4-hydroxybenzaldéhyde dans des proportions stœchiométriques. La porphyrine mono-hydroxylée **15** cristallise après 18 heures à 4 °C et est isolé avec un rendement de 8%. Ce rendement, certes modeste, reste néanmoins conforme à celui attendu pour ce type de réaction

et résulte de la polymérisation concomitante du pyrrole associé à la formation de porphyrines di-, tri-hydroxylées.

3-2- Synthèse de la mono-(3-propargyloxyphényl) tritolylporphyrine

Une simple réaction de Williamson (bromure de propargyle en milieu K_2CO_3 dans le DMF anhydre) sur la porphyrine hydroxylée **15** a permis d'obtenir, en 18 heures, la porphyrine propargylée **16** avec un rendement quantitatif (figure 110).

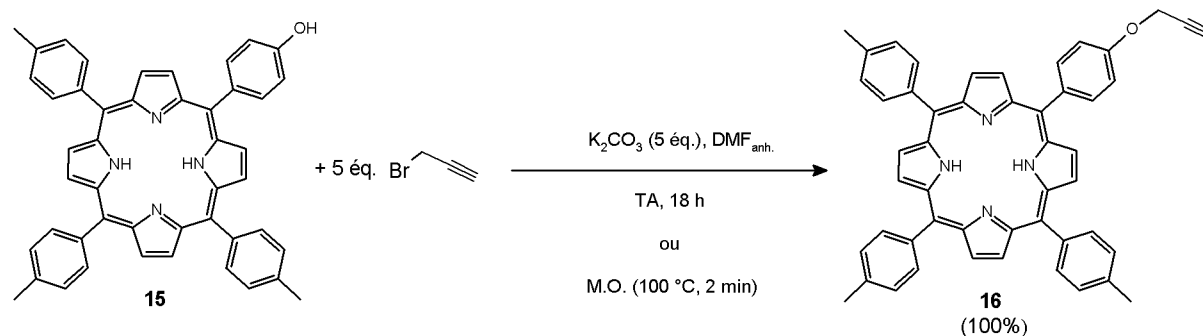


Figure 110 : Fixation d'un alcyne vrai par la méthode de Williamson.

La même réaction, en conditions non anhydres, a été effectuée en 2 minutes sous activation micro-ondes (150 W, 100 °C).

3-3- Métallation au zinc de la porphyrine propargylée

Afin d'éviter la métallation par le cuivre de la porphyrine propargylée lors du couplage, nous avons préalablement chélaté la porphyrine **16** par le zinc (figure 111) qui est un métal facile à décomplexer.^[164] En effet, l'incorporation du cuivre dans la porphyrine l'empêche de produire de l'oxygène singulet.

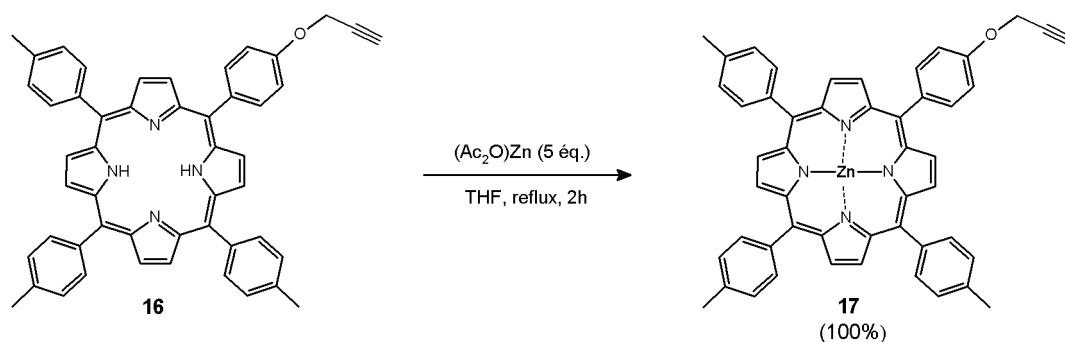


Figure 111 : Métallation au zinc de la porphyrine **16**.

^[164] Decréau R.A., Collman J.P., Yang Y., Yan Y., Devaraj N.K., *J. Org. Chem.*, **2007**, 72, 2794-2802.

Cette métallation est réalisée en traitant la porphyrine base libre **16** avec un excès d'acétate de zinc dans le THF. Le produit métallé **17** est obtenu avec un rendement quantitatif. Le spectre UV-Visible appuie sans équivoque ce résultat.

3-4- Caractérisations

3-4-1- Spectroscopie UV-Visible

Les spectres des porphyrines bases libres sont de type *étio* comme dans le cas des porphyrines aminées, présentées dans le chapitre précédent, et présentent une forte bande d'absorption (bande de Soret) vers 420 nm et quatre autres bandes d'intensité plus faible vers 516, 552, 590 et 648 nm (bandes Q). Le spectre de la porphyrine métallée **17** est caractéristique des porphyrines métallées (disparition des bandes QIV et QI). Les valeurs des maxima d'absorption sont présentées au tableau 12.

Tableau 12 : Bandes caractéristiques des spectres UV-Visible des composés **15**, **16** et **17**.

λ_{\max} (nm) ; coefficient d'absorption molaire, ϵ ($\times 10^{-3} \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) à 25 °C dans CHCl_3 .

Composés	Soret	QIV	QIII	QII	QI	$\epsilon_{\text{II}}/\epsilon_{\text{I}}$
15	418 (363)	516 (13,5)	552 (7,4)	592 (4,0)	648 (4,3)	0,93
16	427 (380)	526 (14,7)	562 (8,2)	603 (4,6)	659 (5,3)	0,87
17	425 (460)	-	554 (15,6)	596 (6,2)	-	-

Le spectre de la porphyrine acétylénique **16** présente une légère distorsion, par rapport aux spectres classiques de type *étio* des bandes I et II conduisant à un spectre atypique avec une bande QI d'intensité supérieure à QII ($\epsilon_{\text{II}}/\epsilon_{\text{I}} < 1$). Cette observation est similaire à celle déjà faite au laboratoire pour la porphyrine **15** ^[113b] et pour la porphyrine **6** (présenté au chapitre précédent).

3-4-2-Spectrométrie de masse

Comme dans le cas des porphyrines aminées, la structure des macrocycles porphyriniques a été confirmée par spectrométrie de masse (tableau 13). Les spectres MALDI pour les composés **15** et **16** ainsi que le spectre ESI du composé **17**, ont mis en évidence le pic quasi-moléculaire $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Tableau 13 : Spectrométrie de masse des composés **15**, **16** et **17**.

Composés	Masse monoisotopique calculée (Da)	Masse de l'ion observé (uma)
15 ^a	672,29	673,60 [M+H] ⁺
16 ^a	710,30	711,32 [M+H] ⁺
17 ^b	772,22	773,23 [M+H] ⁺

(a) : MALDI, (b) : ESI.

3-4-3- RMN du proton

D'une manière générale, le spectre RMN ¹H de ces *méso*-aryltritolylporphyrines se compose des mêmes groupes de signaux (figure 112) que pour les composés triphénylporphyriniques **1**, **2** et **3**; les protons β -pyrroliques vers 8,80 ppm, les protons portés par les tolyles et les aryles entre 8,20 et 7,30 ppm ainsi que les protons NH pyrroliques vers -2,80 ppm. Ces derniers sont absents pour le composé **17** en raison de la chélation par l'atome de zinc. Deux groupes supplémentaires sont observés, les protons du groupement propargyle entre 5,0 et 2,60 ppm et les protons des CH₃ tolyles vers 2,70 ppm.

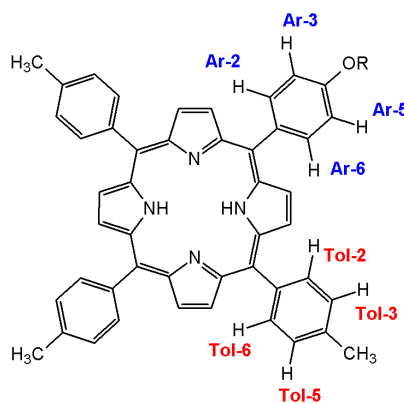


Figure 112 : Groupes des principaux signaux du spectre RMN ¹H (composés **15-17**).

L'étude détaillée des spectres RMN ¹H est présentée au tableau 14. Les protons β -pyrroliques résonnent vers 8,90 ppm sous la forme d'un doublet et singulet ou sous la forme d'un singulet, selon la conformation adoptée par le macrocycle en fonction de la substitution du noyau aryle. Les protons, portés par les aryles, résonnent vers 8,10 ppm et vers 7,20 ppm pour les couples H_{2,6} et H_{3,5} avec des $J_3 = 8,2$ à $8,5$ Hz. Notons que pour les composés **16** et **17**, ces protons se trouvent déblindés, par rapport à ceux du composé **15**, à cause de l'effet mésomère inductif de l'oxygène amoindri du à la substitution par le groupement propargyle. Les protons tolyles aromatiques quant à eux résonnent vers 8,10 ppm pour le couple H_{2,6} et vers 7,55 ppm pour le couple H_{3,5} avec des $J_3 = 7,7-7,8$ Hz. Les protons tolyles

CH₃ résonnent à 2,70 ppm sous la forme d'un singulet. Les protons propargyliques résonnent à 4,96 ppm sous la forme d'un doublet ($J_4 = 2,4$ Hz) pour les CH₂ et à 2,68 ppm sous la forme d'un triplet ($J_4 = 2,4$ Hz) pour le proton acétylénique $\equiv\text{C-H}$.

Tableau 14 : RMN ¹H des porphyrines **15**, **16** et **17** dans CDCl₃.

H	15	16	17
<u>Pyrrole</u>			
H_β	8,93 d (4,4) - 8,84 d (4,4) - 8,83 s _{él.}	8,85 s	8,96 s
NH_{int.}	-2,76 s _{él.}	-2,77 s _{él.}	-
<u>Aryle</u>			
H_{2,6}	8,03 d (8,2)	8,13 d (8,5)	8,13 d (8,5)
H_{3,5}	7,15 d (8,2)	7,34 d (8,5)	7,34 d (8,5)
<u>Tolyle</u>			
H_{2,6}	8,08 d (7,7)	8,08 d (7,8)	8,10 d (7,8)
H_{3,5}	7,53 d (7,7)	7,54 d (7,8)	7,55 d (7,8)
CH₃	2,69 s	2,69 s	2,70 s
<u>Propargyle</u>			
CH₂	-	4,96 d (2,4)	4,96 d (2,4)
$\equiv\text{CH}$	-	2,68 t (2,4)	2,68 t (2,4)

δ en ppm, figure, (J en Hz).

4-Azidation de la cellulose par le système PPh₃/CBr₄/NaN₃

Hasegawa et coll.^[165] ont récemment décrit l'azidation d'un polymère bactérien, le curdlan qui est un homoglucone linéaire relié par des liaisons osidiques β (1-3). Ainsi nous avons transposé ces résultats à la cellulose du coton. La réaction d'azidation utilisant la combinaison de la triphénylphosphine (PPh₃), du tétrabromure de carbone (CBr₄) et de l'azoture de sodium (NaN₃) est présentée sur la figure 113.

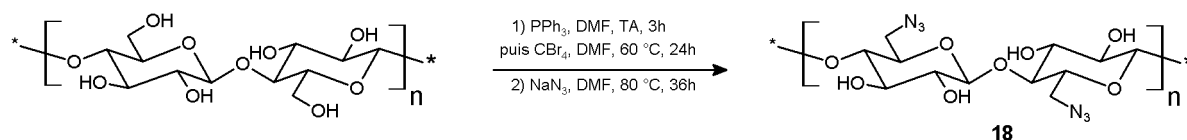


Figure 113 : Azidation du coton cellulosique.

Le coton cellulosique est mis en présence de triphénylphosphine durant 3 heures à température ambiante puis l'ajout du tétrabromure de carbone pendant 24 heures a permis l'obtention d'un dérivé bromé. Ce dernier est transformé par l'azoture de sodium en dérivé azidé au bout de 36 heures pour mener au tissu azidé **18**.

D'un point de vue mécanistique, cette réaction régiosélective est effectuée en 4 étapes (figure 114). La première étape consiste en la formation d'un sel de phosphonium (**A**), du à la complexation de PPh₃ et de CBr₄ amenant à une espèce électrophile sous la forme ⁺PPh₃-CBr₃, Br⁻. L'oxygène de la fonction alcool primaire porté par le carbone 6 de la cellulose va alors attaquer le sel de phosphonium, conduisant à un intermédiaire cellulosique phosphonium (**B**). Cet intermédiaire phosphonium (**B**), très réactif, est alors converti en dérivé bromé (**C**) sous l'action des ions bromures Br⁻, présents dans le milieu réactionnel, libérant ainsi l'oxyde de triphénylphosphine. Le brome, qui est un bon nucléofuge, subit quant à lui une substitution nucléophile par les ions azotures N₃⁻ pour amener à la cellulose azidée **18**.

^[165] Hasegawa T., Umeda M., Numata M., Li C., Bae A.-H., Fujisawa T., Haraguchi S., Sakurai K., Shinkai S., *Carbohydr. Res.*, **2006**, 341, 35-40.

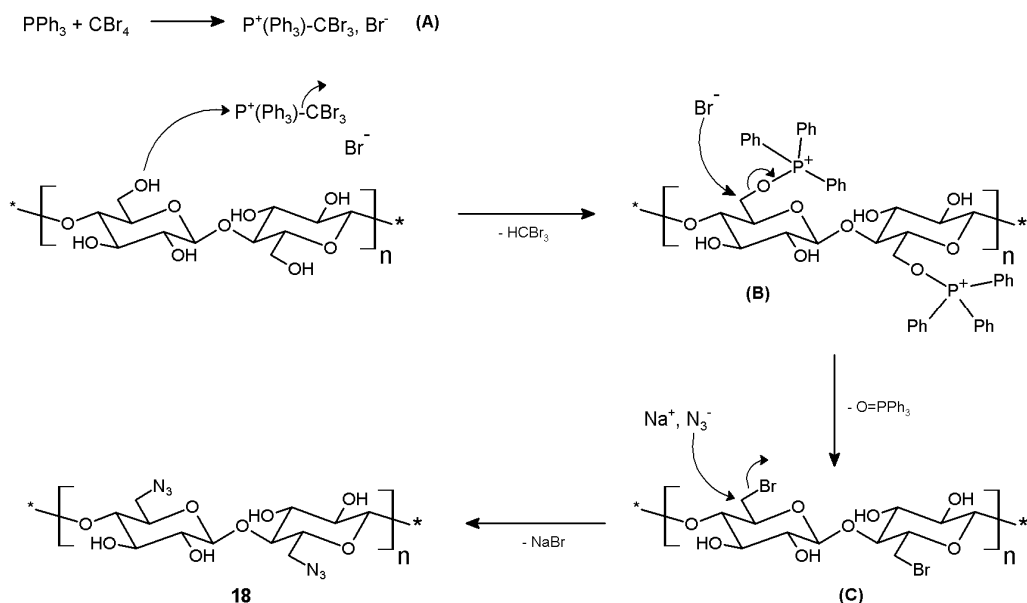


Figure 114 : Mécanisme proposé pour l'azidation de la cellulose par le système $\text{PPh}_3/\text{CBr}_4/\text{NaN}_3$.

5- Tissus triazolyl porphyriniques

Avant de présenter l'élaboration et la caractérisation des tissus triazolyl porphyriniques, nous proposons de présenter une brève mise au point bibliographique du concept de "Click-Chemistry".

5-1- "Click-Chemistry", état de la question

La "Click-Chemistry" est un concept original, développé par Sharpless et coll.^[166] en 2001 dont l'idée initiale était de développer une nouvelle approche en synthèse organique visant à construire des molécules rapidement et aisément ("click") à partir de petites unités organiques fonctionnalisées via des liaisons hétéroatomiques (C-X-C). Les applications de la "Click-Chemistry", avec près de 2000 publications parues à ce jour, recouvrent de vastes domaines.^[167] Elles concernent la chimie thérapeutique, les sciences de la matière, la biochimie, la chimie macrocyclique pour ne citer que ceux-là.

Pour cela, une "click-réaction" doit vérifier un ensemble de critères généraux :

- être de large portée (grandes variétés de molécules de départ) et donner de bons rendements ;
- respecter le principe d'économie d'atomes ;
- générer des sous-produits inoffensifs, éliminables par des méthodes non chromatographiques ;
- être stéréospécifique mais pas forcément énantiosélective.

^[166] Kolb H.C, Finn M.G., Sharpless K.B., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2001**, 40, 2004-2021.

^[167] (a) Lutz J-F., Zarafshani Z., *Adv. Drug Deliver. Rev.*, **2008**, 60, 958-970; (b) Meldal M., *Macromol. Rapid. Comm.*, **2008**, 29, 1016-1051; (c) Hoyle C.E., Bowman C.N, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2010**, 49, 1540-1573; (d) Jewett J.C., Bertozzi C.R., *Chem. Soc. Rev.*, **2010**, 39, 1272-1279.

D'autres conditions concernant les modes opératoires doivent aussi être prises en considération :

- conditions simples de réalisation (inertie vis-à-vis de l'oxygène et de l'eau) ;
- usage de matériels et réactifs facilement disponibles ;
- absence de solvant ou utilisation de solvants inoffensifs ;
- isolation simple du produit de réaction (cristallisation par exemple).

La notion de "Click-Chemistry" englobe plusieurs types de transformations chimiques :

- ✓ les réactions d'addition sur les liaisons multiples carbone-carbone, en particulier les réactions d'oxydation telles que l'époxydation, la dihydroxylation, l'aziridination mais aussi certaines réactions d'addition de Michael ;
- ✓ les réactions faisant intervenir la fonction carbonyle (type non aldol) telle que la formation d'urée, de thiourée ou encore d'hétérocycles aromatiques ;
- ✓ les réactions nucléophiles d'ouverture de cycles, en particulier d'hétérocycles électrophiles tendus tels que les époxydes, les aziridines ou encore les ions épisulfoniums ;
- ✓ enfin les cycloadditions d'espèces insaturées (type Diels-Alder) mais surtout les réactions de cycloaddition 1,3-dipolaire.

L'importance de la chimie "click" s'est notamment exprimée à la faveur de la découverte de la cycloaddition 1,3-dipolaire, et plus précisément la cycloaddition [3+2] entre un alcyne terminal et un azoture.

5-1-1- Cycloaddition 1,3-dipolaires : cas particuliers des azotures et alcynes

A l'origine, la cycloaddition 1,3-dipolaire décrite par Huisgen est une méthode qui unit deux réactifs insaturés, conduisant à une grande variété d'hétérocycles à 5 ou 6 centres. Parmi les cycloadditions 1,3-dipolaires, nous nous sommes intéressés à la cycloaddition de Huisgen^[168] entre un azoture et un alcyne terminal (figure 115).

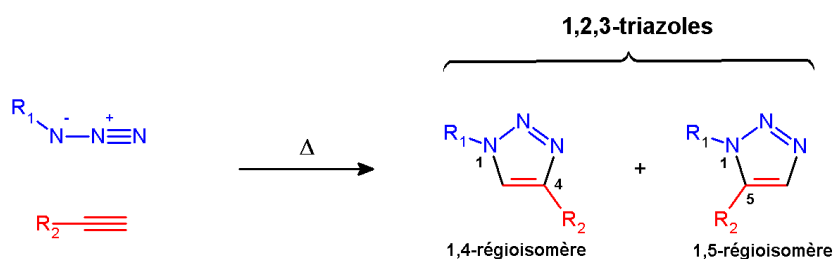


Figure 115 : Cycloaddition 1,3-dipolaire entre un alcyne vrai et un azoture.

^[168] Huisgen R., Knorr R., Mobius L., Szeimies G., *Chem. Ber.*, **1965**, 98, 4014-4021.

Cette réaction, qui connaît actuellement un développement remarquable, a cependant rebuté les chimistes à la fin du 19^e siècle, notamment en raison de l'existence d'une certaine "azidophobie".^[169] Cependant les composés azidés (en particulier aliphatiques) sont remarquablement stables vis-à-vis de la dimérisation et de l'hydrolyse notamment. Ces composés dipolaires présentent, en effet, une inertie envers de nombreux produits chimiques réactifs tels que le dioxygène, l'eau et une partie du système complexe de molécules hautement fonctionnalisées que constitue une cellule vivante.^[170] La cycloaddition thermique [3+2] entre un azoture et un alcyne conduit à un mélange de deux produits majoritaires ; les 1,4- et 1,5-régioisomères (figure 115), dont les substituants R₁ et R₂ sont séparés par le noyau hétéroatomique formé, nommé 1,2,3-triazole. L'absence de régiosélectivité couplée à des temps de réaction longs, nécessitant des températures élevées, a limité l'intérêt porté à cette cycloaddition.

5-1-2- Découverte du cuivre(I) comme catalyseur régiosélectif

C'est avec la découverte simultanée en 2002 de Sharpless et Meldal^[169, 171] sur l'utilisation du cuivre au degré d'oxydation (I) comme catalyseur de cette cycloaddition, que le potentiel de cette réaction s'est considérablement développé. La formation exclusive du composé 1,2,3-triazole 1,4-disubstitué a lieu alors à température ambiante et jusqu'à 10 millions de fois plus vite. La réaction est nommée CuAAC ("Copper(I)-catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition") soit la cycloaddition entre un azoture et un alcyne catalysée par le cuivre (I). Un des premiers exemples de chimie "click", mettant en jeu de la tournure de cuivre, montre la simplicité et l'efficacité du processus (figure 116). En effet, après 24 h de réaction, une simple filtration permet d'obtenir le produit organique (ayant précipité dans le milieu réactionnel) après avoir retiré les fils de cuivres.

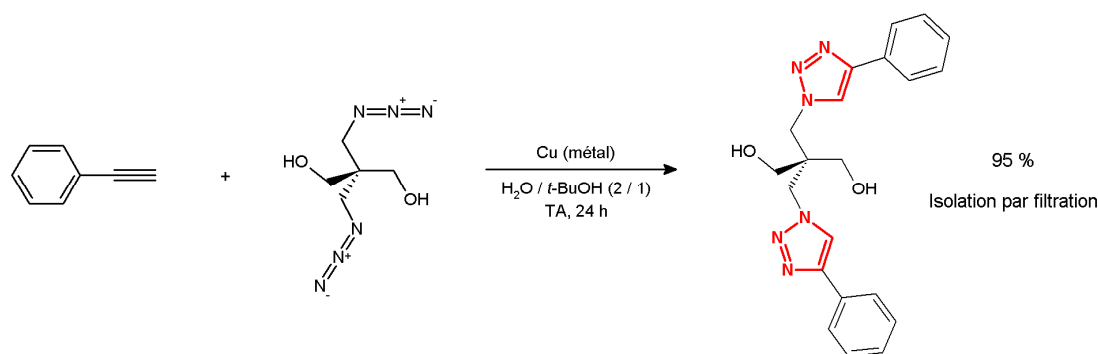


Figure 116 : Exemple de réaction "Click-Chemistry".

^[169] Rostovstev V.V., Green L.G., Fokin V.V., Sharpless K.B., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2002**, 41, 2596-2599

^[170] Saxon E., Bertozzi C.R., *Science*, **2000**, 287, 2007-2010.

^[171] (a) Tornøe C.W., Meldal M., *Peptidotriazoles: Copper(I)-catalysed 1,3-dipolar cycloaddition on solid phase*, In *peptides 2001*, Proc. Am. Pept. Symp.; Lebl M., Houghten R.A. (Eds), San Diego, **2001**, 263-264; (b) Tornøe C.W., Christensen C., Meldal M., *J. Org. Chem.*, **2002**, 67, 3057-3064.

Cependant, la source de cuivre (I), permettant de catalyser la réaction de cycloaddition, peut avoir plusieurs origines. Différents sels de cuivre au degré d'oxydations 0, I ou II peuvent être utilisés, associés à des solvants organiques ou non.^[172] Quelques exemples de systèmes catalytiques utilisés lors de la réaction CuAAC sont présentés au tableau 15.

Tableau 15 : Exemples de système catalytique pour la CuAAC.

Nombre d'oxydation du cuivre	Sels ou métaux	Agent réducteur	Base/sel	Solvant	Références
0	Tourmure Nanoparticules Nanoclusters	-	Chlorure de triéthylammonium	<i>t</i> -BuOH/H ₂ O EtOH/H ₂ O	[173, 174]
I	CuI Cu(CH ₃ CN) ₄ PF ₆ CuBr(PPh ₃) ₄ CuIP(OEt) ₃	-	Triéthylamine Diisopropyléthylamine 2,6-lutidine	THF DMF Toluène Dichlorométhane Acétonitrile	[169, 175]
II	CuSO ₄ Cu(OAc) ₂	Ascorbate de sodium Cuivre (0)	-	<i>t</i> -BuOH/H ₂ O EtOH/H ₂ O	[169, 176, 177]

La réduction *in situ* des sels de cuivre (II), apportés sous forme de sulfate de cuivre ou d'acétate de cuivre, est la méthode la plus couramment rencontrée. L'ajout d'un agent réducteur comme l'ascorbate de sodium ou le cuivre métallique permet la réduction du cuivre (II) en cuivre (I), espèce catalytiquement active. De plus, la tolérance vis-à-vis de la température, sur un large domaine de pH et dans une grande variété de solvants, ne rendent la réaction que plus attrayante. Enfin, les temps de réactions ont largement été diminués (quelques minutes au lieu de quelques heures) sans affecter les rendements grâce à l'utilisation de l'activation par irradiation micro-onde.^[178]

^[172] Meldal M., Tornøe C.W., *Chem. Rev.*, **2008**, 108, 2952-3015.

^[173] Himo F., Lovell T., Hilgraf R., Rostovstev V.V., Noodleman L., Sharpless K.B., Fokin V.V., *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, 127, 210-216.

^[174] (a) Pachon L.D., van Maarseveen J.H., Rothenberg G., *Adv. Synth. Catal.*, **2005**, 347, 811-815; (b) Crivelli I.G., Andrade C., Francois M.A., Boys D., Haberland A., Segura R., Leiva A.M., Loeb B., *Polyhedron*, **2000**, 19, 2289-2295.

^[175] (a) Horne W.S., Stout C.D., Ghadiri M.R., *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, 125, 9372-9376; (b) Horne W.S., Yadav M.K., Stout C.D., Ghadiri M.R., *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, 126, 15366-15367.

^[176] Rodinov V.O., Fokin V.V., Finn M.G., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2005**, 44, 2210-2215.

^[177] (a) Wu P., Feldman A.K., Nugent A.K., Hawker C.J., Scheel A., Voit B., Pyun J., Fréchet J.M., Sharpless K.B., Fokin V.V., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2004**, 43, 3928-3932; (b) Taylor M.S., Zalatan D.N., Lerchner A.M., Jacobsen E.N., *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, 127, 1313-1317; (c) Lewis W.G., Magallon F.G., Fokin V.V., Finn M.G., *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, 126, 9152-9153.

^[178] (a) Pérez-Balderas F., Ortega-Muñoz M., Morales-Sanfrutos J., Hernández-Mateo F., Calvo-Flores F.G., Calvo-Asín J.A., Isac-García J., Santoyo-González F., *Org. Lett.*, **2003**, 5, 1951-1954; (b) Appukkutan P., Dehaen W., Fokin V.V., der Eycken E.V., *Org. Lett.*, **2004**, 6, 4223-4225.

5-1-3- Point de vue mécanistique

Pour mieux appréhender le rôle catalytique du cuivre lors de la réaction de cycloaddition et notamment la régio-isomérisation amenant à la formation du composé 1,2,3-triazole 1,4-disubstitué, un premier mécanisme hypothétique a été proposé,^[173] d'après des calculs de chimie théorique (DFT ou *Density Functional Theory*), utilisant l'eau ou l'acétonitrile comme solvant (figure 117).

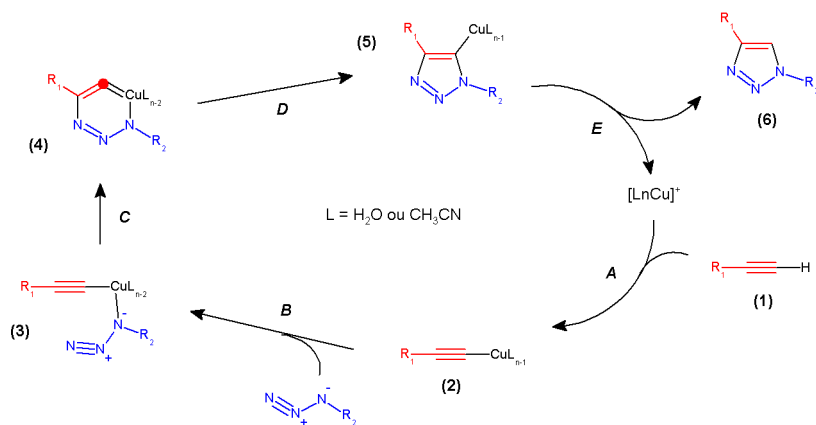


Figure 117 : Premier mécanisme hypothétique de la "Click-Chemistry" catalysée par le cuivre.^[173]

Des modélisations moléculaires sur les complexes Cu-acétylure indiquent que le mécanisme concerté est fortement défavorisé au profit d'un mécanisme asynchrone. Dans le mécanisme proposé, le ligand L est l'acétonitrile. La première étape **A** est la formation du complexe Cu-anion alcynyle (**2**) par échange de ligand, l'acétylure pouvant être déprotoné par une base. Cette première étape a été étayée par des études préliminaires sur l'insertion du cuivre (I) dans les alcynes terminaux ainsi que par l'absence de réactivité des alcynes internes. L'azoture remplace ensuite un autre ligand pour donner le complexe (**3**) dans l'étape **B**. L'azote terminal attaque alors le carbone C-2 de l'acétylide pour conduire au métallacycle (**4**) à six chaînons non usuel, avec du cuivre au nombre d'oxydation (III). Une contraction de cycle donne un dérivé triazole-cuivre (**5**) qui subit une protonation pour aboutir au triazole final (**6**), régénérant le catalyseur cuivre.

Le profil réactionnel présenté sur la figure 118, valable pour les solvants eau et acétonitrile, met en évidence les intermédiaires réactionnels et plusieurs états de transition (étapes **C** et **D**) du mécanisme précédemment décrit.

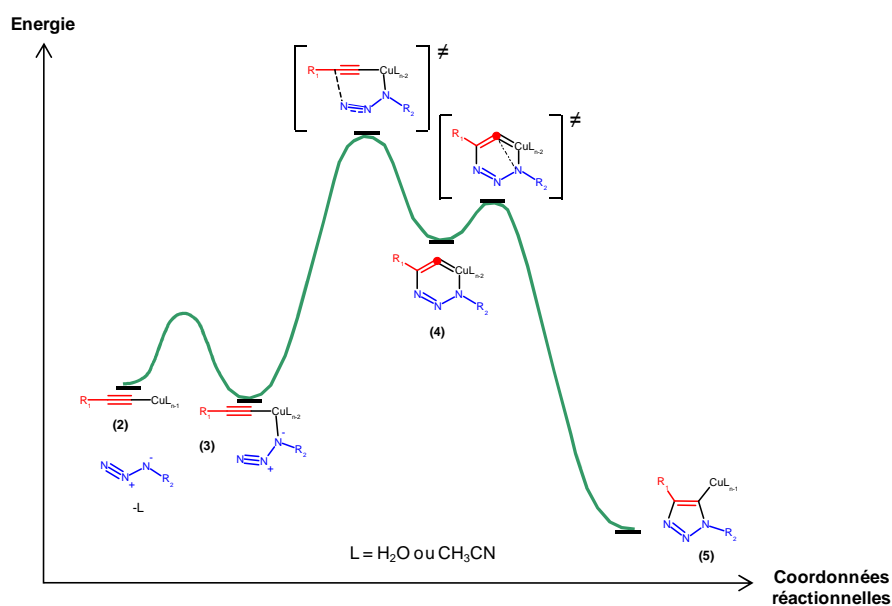


Figure 118 : Diagramme énergétique du premier mécanisme hypothétique.^[173]

D'autres mécanismes ont été proposés, à partir d'études cinétiques, faisant intervenir des dimères de cuivre.^[176] Le plus récent des mécanismes tient compte notamment des preuves structurales tirées de "Cambridge Crystal Database".^[172] Il suggère que l'acétylénure et l'azoture ne sont pas nécessairement liés au même atome de cuivre (figure 119).

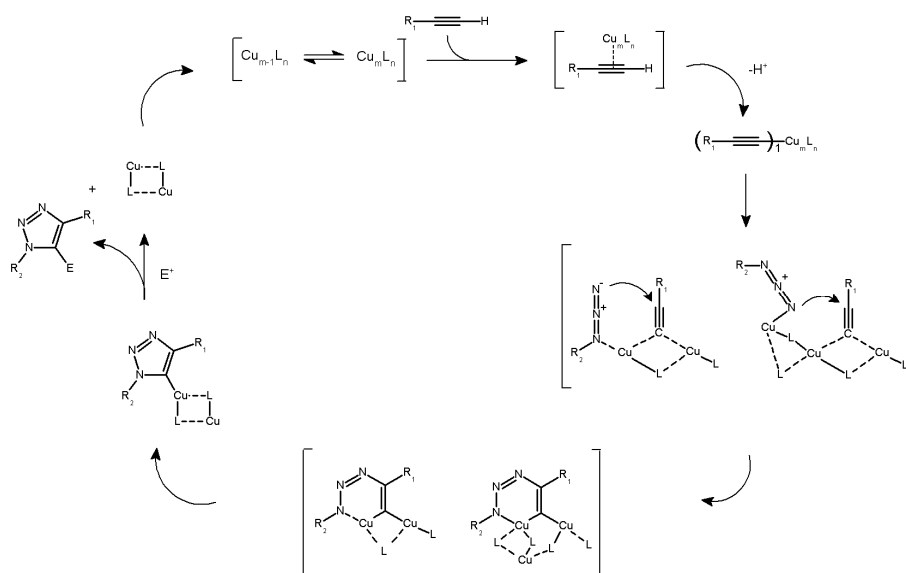


Figure 119 : Mécanisme plausible pour la CuAAC.^[172]

5-1-4- Quelques exemples...

Les domaines d'applications des composés 1,4-disubstitués sur le triazole sont nombreux ; chimie thérapeutique (synthèse peptidomimétique, d'oligonucléotides, chimie des lipides, chimie des sucres...), chimie des polymères, chimie macrocyclique, biochimie... et la liste n'est pas exhaustive.

Au sein de notre laboratoire, cette méthodologie a été employée pour les synthèses d'analogues de nucléotides,^[179] de systèmes peptido-porphyriniques,^[113d] assistées par activation micro-ondes à visées thérapeutiques mais également pour la synthèse de nouveaux tensioactifs nommés "star-like".^[180] La "Click-Chemistry" a également fait l'objet de divers travaux sur les polysaccharides présentant potentiellement un intérêt pharmaceutique, comme le couplage entre un dérivé du curdlan (β -(1-3) glucane) et les porphyrines.^[181]

5-2- Elaboration des tissus

Le résultat de la réaction de cycloaddition entre le précurseur acétylénique **17** et le coton azidé **18** est représenté sur la figure ci-dessous (figure 120).

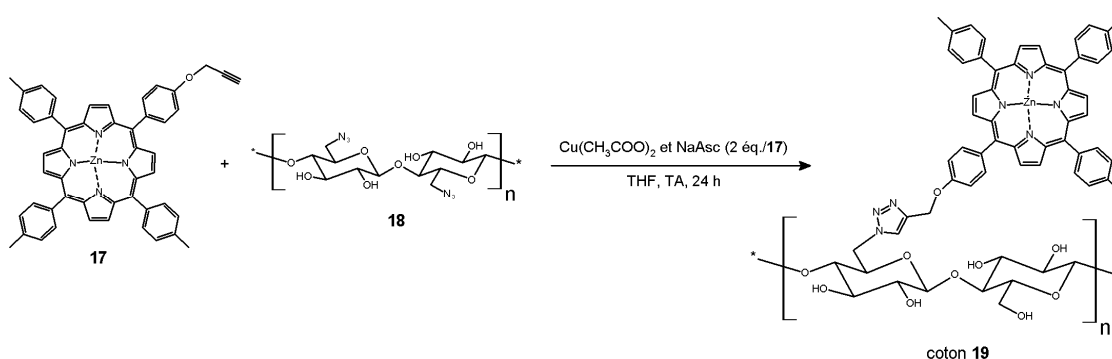


Figure 120 : Cycloaddition 1,3-dipolaire entre la porphyrine **17** et le coton **18**.

A température ambiante, le coton azidé **18**, l'acétate de cuivre et l'ascorbate de sodium sont ajoutés à une solution porphyrinique **17** dans le THF. Notons que l'ascorbate de sodium joue le rôle de réducteur afin de réduire le cuivre (II) en cuivre (I), espèce catalytiquement active. Après 24 heures de réaction, le coton "clické" **19** est obtenu avec un taux de greffage en porphyrine de l'ordre de 70% (10,5 μ mol d'actif par carré de coton), déterminé par mesure de l'absorbance à 425 nm de la porphyrine restante en solution (comme décrit dans le chapitre précédent).

Par rapport aux valeurs obtenues dans l'élaboration des tissus triazinyl porphyriniques, le taux de greffage obtenu par cette méthode est similaire, de l'ordre de 70%. Ce résultat met en évidence l'efficacité du concept développé malgré la modification chimique du coton cellulosique au préalable.

^[179] (a) Lucas R., Neto V., Hadj Bouazza A., Zerrouki R., Granet R., Krausz P., Champavier Y., *Tetrahedron Lett.*, **2008**, 49, 1004-1007; (b) Lucas R., Zerrouki R., Granet R., Krausz P., Champavier Y., *Tetrahedron*, **2008**, 64, 5467-5471.

^[180] Neto V., Granet R., Mackenzie G., Krausz P., *J. Carbohydr. Chem.*, **2008**, 24, 231-237.

^[181] Hasegawa T., Umeda M., Numata M., Li C., Bae A.-H., Fujisawa T., Haraguchi S., Sakurai K., Shinkai S., *Carbohydr. Res.*, **2006**, 341, 35-40.

5-3- Caractérisations des surfaces

5-3-1- IR par réflectance (ATR-FTIR)

Les spectres ATR-FTIR du coton initial et des cotons fonctionnalisés **18**, **19** sont présentés sur la figure 121.

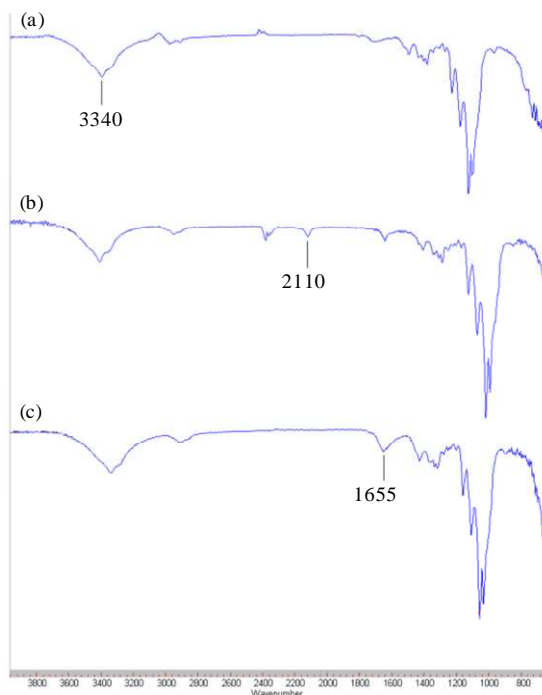


Figure 121 : Spectre ATR-FTIR comparatif du (a) coton initial et des cotons modifiés, (b) **18** et (c) **19**.

Le spectre du coton azidé **18** présente les mêmes caractéristiques que celui de la cellulose avec l'apparition d'un signal à 2110 cm^{-1} , caractéristique des vibrations d'élongation des fonctions azides. Ce résultat confirme la présence des fonctions N_3 sur la cellulose et l'efficacité de la réaction d'azidation. Quant au spectre du coton "clické" **19**, on note la disparition du signal à 2110 cm^{-1} (permettant d'affirmer que toutes les fonctions azides ont été engagées dans la formation du noyau 1,2,3-triazole 1,4-disubstitué) et l'apparition d'un signal à 1655 cm^{-1} , caractéristique des doubles liaisons C=N porphyriniques. Le signal correspondant à la vibration N=N du noyau triazole est difficile à détecter et est confondu dans le signal des doubles liaisons C=N.^[182] Néanmoins il semble admis que la bande des liaisons N=N soit située dans la région des absorptions aromatiques aux alentours de 1600 cm^{-1} .^[183] Ces résultats ne mettent pas directement en évidence le noyau triazole mais la disparition complète du signal à 2110 cm^{-1} et l'apparition d'une bande dans la région de 1600 cm^{-1} nous permettent tout de même d'affirmer la création du lien covalent entre le coton cellulosique et le photosensibilisateur par l'intermédiaire d'un cycle triazole.

^[182] Lieber E., Levering D.R., Paterson L., *Analyt. Chem.*, **1951**, 23, 1594-1604.

^[183] Bellamy L.J., *The Infra-red Spectra of Complex Molecules*, Methuen & Co., Ltd. (Eds.), London, **1958**, 271-273.

5-3-2- UV-Visible par réflectance diffuse (DRUV)

L'analyse en UV-Visible par réflectance du tissu triazolyl porphyrinique **19** est présentée sur la figure 122.

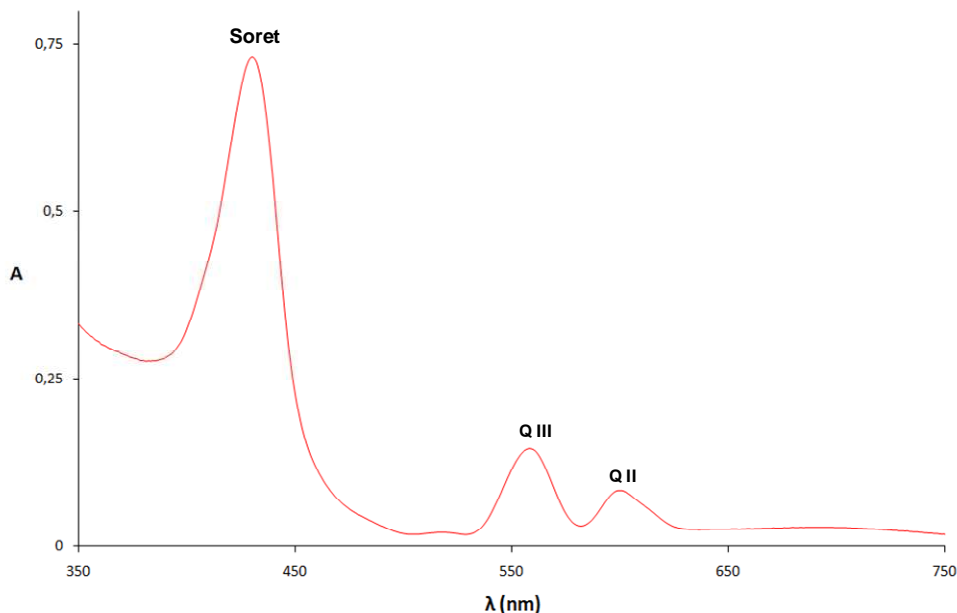


Figure 122 : Spectre UV-Visible par réflectance du tissu **19**.

L'allure du spectre UV-Visible est similaire à celui du composé **17** en solution dans le chloroforme. Les principaux signaux correspondant à l'absorption du photosensibilisateur sont mis en évidence ; en effet la bande de Soret dans la zone 420-430 nm et les bandes Q entre 550 et 650 nm apparaissent clairement. On peut observer très clairement l'absence des bandes QI et QIV, caractéristique des porphyrines métallées. Les valeurs exactes des maxima d'absorption (porphyrines libres en solution et porphyrines supportées sur la cellulose) sont résumées au tableau 16.

Tableau 16 : Données électroniques des maxima d'absorption en UV-Visible.

Composés	Soret (nm)	Q (nm)
17	425	554, 596
coton 19	430	558, 600

Les observations sont sensiblement identiques à ceux reportées pour les cotons **12**, **13** et **14**, utilisant le dérivé 1,3,5-triazine comme agent de greffage.

5-3-3- Analyse thermogravimétrique (ATG)

Les courbes ATG obtenues pour le coton azidé **18** et le coton porphyrinique **19** sont comparées à celle du coton non modifié et sont présentées sur la figure 123.

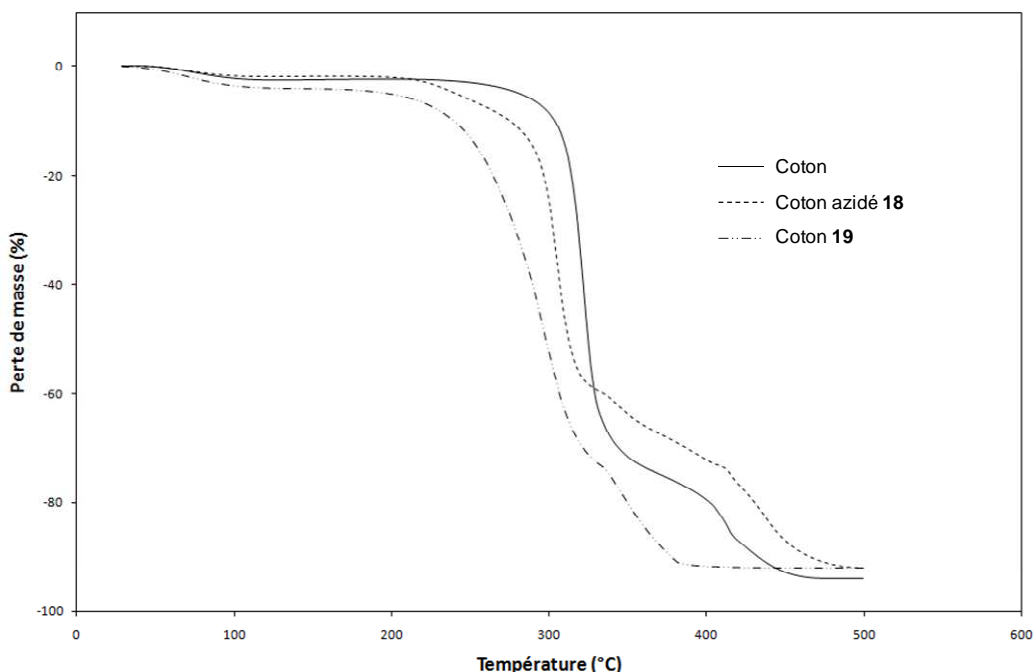


Figure 123 : Courbes ATG.

Aux faibles températures, la perte de masse est quasi identique et correspond à la déshydratation des composés. La température de 325 °C est celle à partir de laquelle le coton azidé devient plus stable que le coton natif. Elle peut s'expliquer par la présence des fonctions N_3 , provoquant des interactions plus importantes au sein de la structure cellulosique et augmentant ainsi sa stabilité. Aux plus hautes températures, la perte de masse a lieu en plusieurs étapes et notamment pour le coton **19**, la décomposition du photosensibilisateur, la coupure du lien triazole et la décomposition totale du matériel. Le coton fonctionnalisé par les porphyrines est moins stable thermiquement que le coton non modifié (figure 123) comme dans le cas des tissus triazinyl porphyriniques. Les tissus triazolyl porphyriniques se comporte sensiblement comme les tissus triazinyl, décrits dans le chapitre précédent, en fonction de la température ; les propriétés des tissus modifiés (stabilité thermique et phénomènes de décomposition) observées sont similaires.

5-3-4- Microscopie électronique à balayage (MEB)

Les photographies obtenues sur les cotons modifiés, tissu azidé **18** et tissu triazolyl porphyrinique **19** sont présentées sur la figure 124.

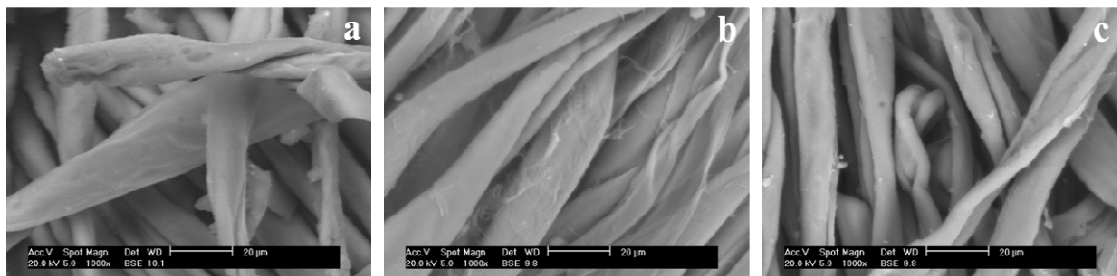


Figure 124 : Photographie MEB ; (a) coton initial, (b) coton **18** et (c) coton **19**.

Comme le montre les photographies de la figure 124, la modification chimique n'a pas altérée la morphologie des fibres cellulosiques. La structure initiale des fibres de coton est préservée. En effet, aucun phénomène de déchirement ou de destruction n'est observable.

6- Conclusions

Un concept original de "Click-Chemistry" a été développé pour l'élaboration de tissus cellulosiques à motifs *méso*-tritolylporphyriniques. Cette stratégie a nécessité la synthèse d'une porphyrine porteuse d'une fonction alcyne vraie terminale et l'azidation du support cellulosique grâce au système $\text{PPh}_3/\text{CBr}_4/\text{NaN}_3$. La mise au point de la réaction de "Click-Chemistry" entre le coton azidé et le photosensibilisateur acétylénique a été réalisée avec un taux de greffage en porphyrine satisfaisant. Comme pour les tissus triazinyl porphyriniques, l'analyse ATR-FTIR et DRUV nous a permis de mettre en évidence le lien covalent (noyau triazole dans ce cas) entre le photosensibilisateur et le tissu cellulosique. De plus, l'analyse en MEB a montré également que le greffage chimique n'a aucune influence sur l'aspect général des fibres cellulosiques (aucun phénomène de déchirement observé).

Chapitre IV Tissus celluloseux protoporphyriniques

1- Introduction

Afin de nous affranchir de la synthèse du macrocycle, nous avons choisi de partir d'une porphyrine d'origine naturelle et facilement accessible, la protoporphyrine IX (Pp IX) (figure 125). La chimie de ce photosensibilisateur a largement été étudiée et son fort caractère photosensible, indispensable pour une application en photothérapie, est bien connu.^[111, 130b, 184]

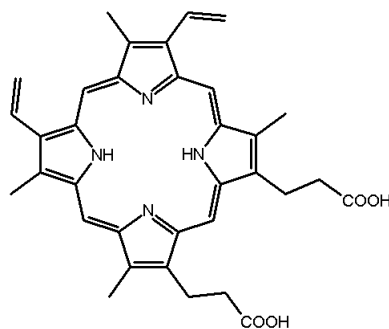


Figure 125 : Structure de la protoporphyrine IX.

La stratégie de fixation du photosensibilisateur a consisté à attacher le macrocycle protoporphyrinique sur le coton par un lien amide, le coton étant fonctionnalisé par polymérisation radicalaire. Le schéma général est présenté sur la figure 126.

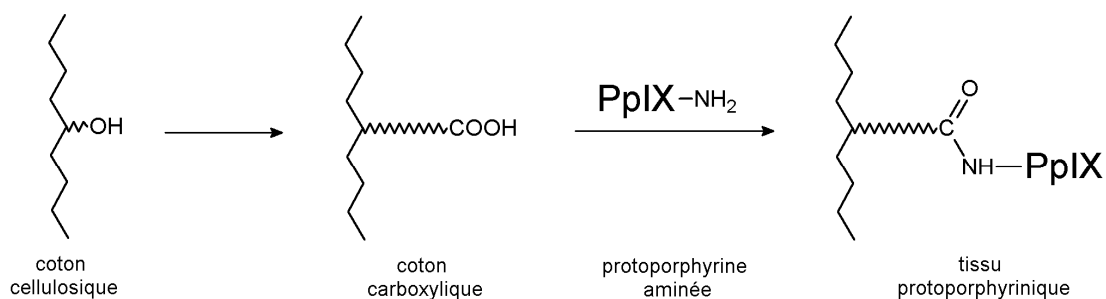


Figure 126 : Schéma général de l'élaboration des tissus protoporphyriniques.

^[184] Pavlov V.Y., *Russ. J. Org. Chem.*, **2007**, 43, 1-34.

2- Stratégie de synthèse

La stratégie développée a consisté à greffer la protoporphyrine IX modifiée sur la cellulose fonctionnalisée au moyen d'une liaison amide (figure 127). Nous avons opté pour un dérivé protoporphyrinique aminé muni d'un bras espaceur éthylène glycol. L'éloignement du macrocycle porphyrinique par rapport au polymère pourrait limiter les phénomènes d'encombrement stérique et donc faciliter sa fixation.

Le tissu protoporphyrinique **24** provient du couplage peptidique entre le dérivé protoporphyrinique aminé **22** et le coton fonctionnalisé par des motifs acide méthacrylique **23**. Pour cela, nous avons dans un premier temps modifié la protoporphyrine IX afin d'obtenir des fonctions amines primaires sur le macrocycle par couplage du bras aminé monofonctionnel **20** lui-même obtenu à partir de la 2,2'-(éthylènedioxy)-bis-(éthylamine). Le coton fonctionnalisé **23** est obtenu par polymérisation radicalaire de l'acide méthacrylique en présence de CAN afin de créer des fonctions acides carboxyliques libres à la surface du support.

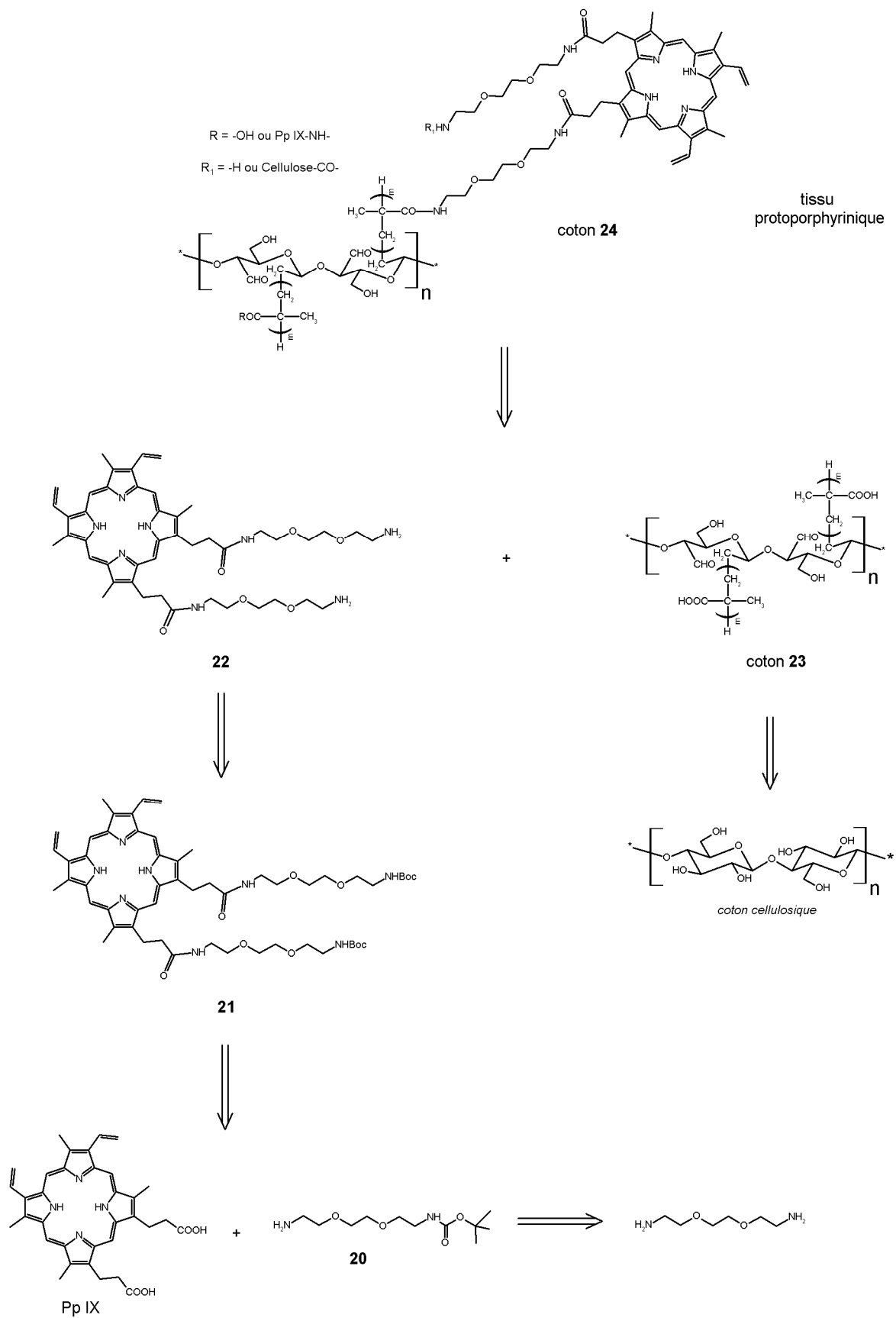


Figure 127 : Elaboration de tissus protoporphyriniques.

3- Synthèse du précurseur protoporphyrinique

3-1- Synthèse du bras éthylène glycol monofonctionnel

Une des fonctions amine de l'éthylène glycol diamine a été protégée régiosélectivement au niveau d'une seule fonction en faisant réagir un large défaut de Boc_2O dans le dichlorométhane anhydre (figure 128).

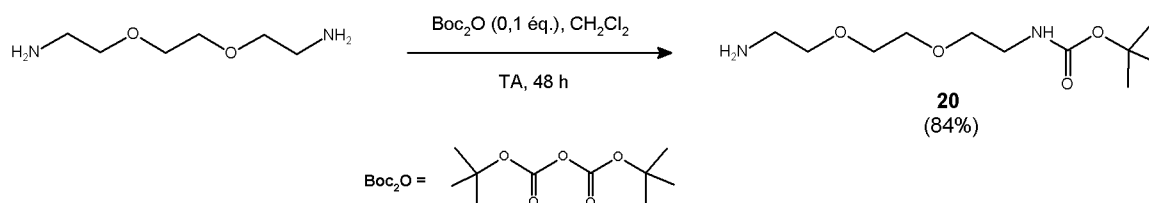


Figure 128 : Protection d'une fonction amine du bras éthylène glycol.

Le composé monoprotégé **20** est isolé par chromatographie au bout de 48 heures avec un rendement de 84%, résultat conforme à celui obtenu par Mart et coll.^[185]

3-2- Couplage du bras monofonctionnel sur la Pp IX

La fixation de deux unités aminées (composé **20**) a été réalisée sur la protoporphyrine IX en s'appuyant sur des stratégies couramment utilisées en synthèse peptidique. La protoporphyrine IX est activée en présence de dicyclohexylcarbodiimide (DCC) et du 1-hydroxybenzotriazole (HOBt) dans le DMF. L'amine **20** est ajoutée goutte à goutte au milieu réactionnel après activation (figure 129).

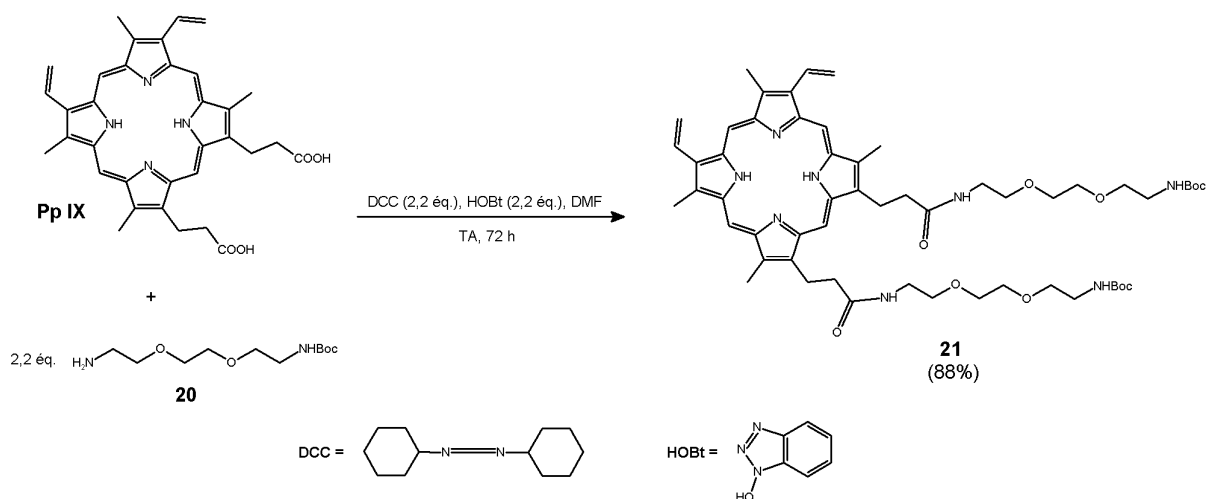


Figure 129 : Couplage du bras aminé sur la Pp IX.

^[185] Mart R.J., Liem K.P., Wang X., Webb S.J., *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, 128, 14462-14463.

Après 3 jours à température ambiante, le dérivé attendu **21** est obtenu avec un rendement de 88%, rendement comparable à des dérivés protoporphyriniques portant des unités polyaminées (spermine ou spermidine) synthétisés dans notre laboratoire.^[130b]

Le mécanisme mis en jeu, présenté sur la figure 130, est classique de l'activation par le système DCC/HOBt. Il repose sur l'activation des fonctions acides carboxyliques de la porphyrine en présence de DCC, espèce extrêmement réactive. L'ajout de HOBt, excellent nucléophile, permet de substituer l'anhydride formé par un très bon groupe partant amenant à un ester d'HOBt. L'addition de l'acide carboxylique sur l'une des doubles liaisons C=N du DCC (espèce réactive) conduit à la formation d'une O-acylisourée **A**. Cette dernière réagit ensuite rapidement avec le HOBt (bon nucléophile), libérant ainsi une urée (dicyclohexylurée) afin de former un ester très réactif **B**. Cet ester réactif sera capable de réagir avec la fonction amine primaire du bras aminé pour donner le composé final amide.

Ce même ester peut également être obtenu par l'action de l'hexafluorophosphate de benzotriazolyloxy-tri-(diméthylamino) phosphonium appelé BOP ou bien par le PyBOP® (l'hexafluorophosphate de benzotriazolyloxy-tri-(pyrrolidino) phosphonium) avec des rendements similaires.^[186]

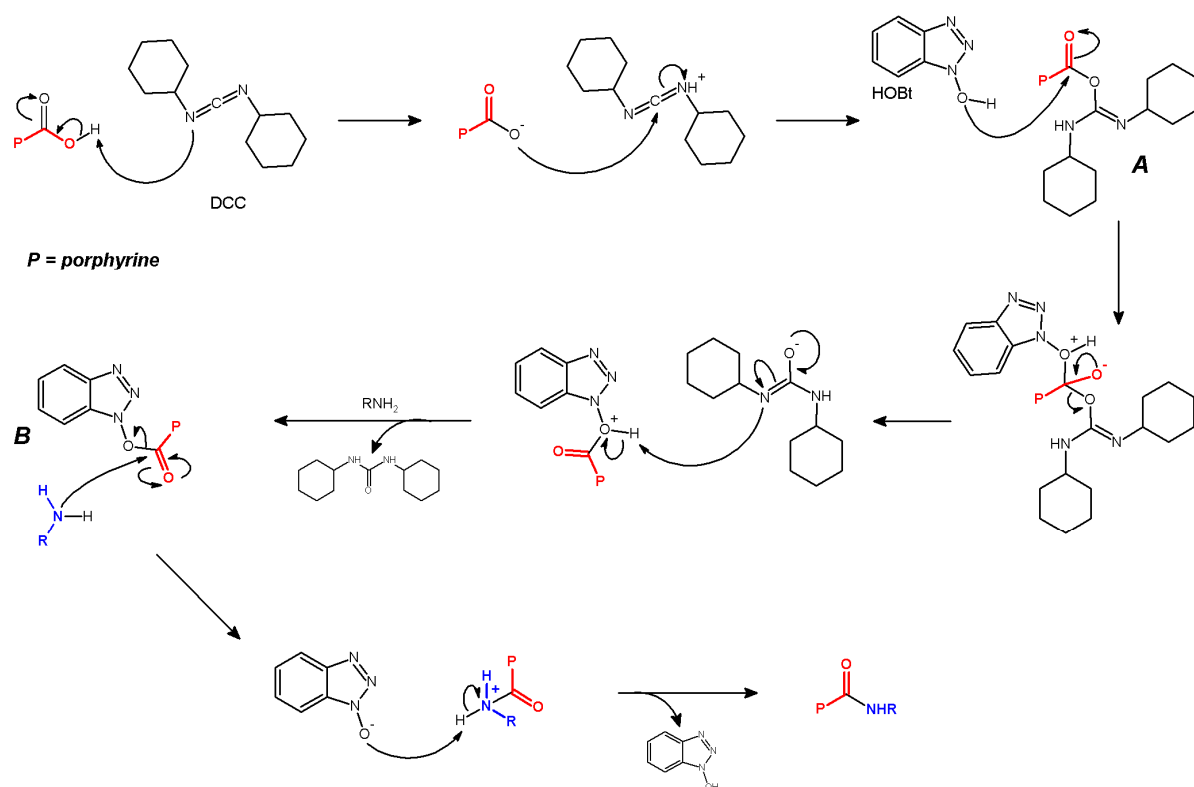


Figure 130 : Mécanisme d'activation des acides carboxyliques par le système DCC/HOBt.

^[186] (a) Castro B., Dormoy J.R., Evin G., Selve C., *Tetrahedron Lett.*, **1975**, 14, 1219-1222; (b) Coste J., Le-Nguyen D., Castro B., *Tetrahedron Lett.*, **1990**, 31, 205-208.

3-3- Déprotection de la protoporphyrine IX modifiée

Lors de la dernière étape, le groupement Boc est éliminé quantitativement, à température ambiante après 3 heures, en milieu acide trifluoroacétique pour mener au composé **22** (figure 131).

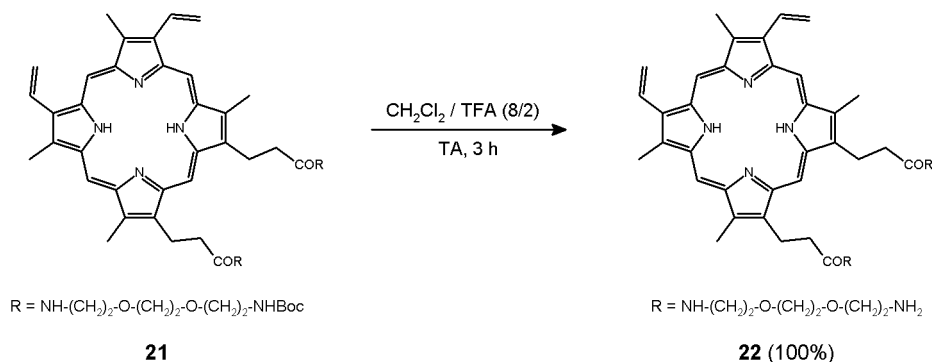


Figure 131 : Déprotection des fonctions amines.

3-4- Caractérisations

3-4-1- Spectroscopie UV-Visible

Les spectres des dérivés protoporphyriniques **21** et **22**, comme pour les *méso*-arylporphyrines présentées précédemment, sont de type *étio* et sont caractéristiques des porphyrines substituées sur les positions β -pyrroliques (structure protoporphyrinique). En effet, la bande de Soret est observée vers 405 nm et les bandes Q vers 505, 540, 575 et 630 nm. Les résultats sont présentés au tableau 17 et sont comparés à ceux obtenus pour la protoporphyrine IX.^[187]

Tableau 17 : Bandes caractéristiques des spectres UV-Visible de la protoporphyrine IX et des composés **21** et **22**.

λ_{max} (nm) ; coefficient d'absorption molaire, ϵ ($\times 10^{-3} \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) à 25 °C.

Composés	Soret	QIV	QIII	QII	QI	$\epsilon_{\text{II}}/\epsilon_{\text{I}}$
Pp IX ^a	408 (170)	506 (16,4)	542 (13,3)	577 (8,6)	630 (6,2)	1,39
21 ^b	407 (173)	505 (14,4)	541 (11,6)	576 (7,0)	630 (5,4)	1,30
22 ^c	402 (85,4)	503 (7,6)	537 (6,1)	574 (3,8)	629 (2,8)	1,36

(a) : DMSO, (b) : CHCl_3 , (c) : MeOH.

Nous pouvons observer pour le composé déprotégé **22** un déplacement vers le bleu, traduisant un phénomène de stacking de type "face to face" ou H-aggregate par rapport au spectre de référence de la protoporphyrine IX (phénomène déjà observé précédemment dans le cas des porphyrines aminées

^[187] Scolaro L.M., Castriciano M., Roméo A., Patané S., Cefali E., *J. Phys. Chem. B*, **2002**, 106, 2453-2459.

sulfonées). Dans ce cas, l'effet hypochrome s'accompagne d'un effet hypochrome, traduisant une diminution des valeurs de coefficient d'absorption molaire.

3-4-2- Spectrométrie de masse

La structure du composé **20** et des dérivés protoporphyriniques **21**, **22** ont été confirmés par spectrométrie de masse ESI, montrant le pic quasi-moléculaire $[M+H]^+$ attendu (tableau 18).

Tableau 18 : Spectrométrie de masse ESI du composé **20** et des dérivés protoporphyriniques **21** et **22**.

Composés	Masse monoisotopique calculée (Da)	Masse de l'ion observé (uma)
20	248,17	249,18 $[M+H]^+$
21	1022,58	1023,59 $[M+H]^+$
22	822,48	823,49 $[M+H]^+$

3-4-3- RMN du proton

Une des caractéristiques principales de la protoporphyrine IX et de ses analogues est qu'excepté le plan de la porphyrine, ces composés ne possèdent aucun élément de symétrie. L'attribution précise des protons à l'intérieur de chaque groupe des substituants s'avère donc difficile. D'une manière générale, les spectres RMN du proton de ces porphyrines se composent des groupes de signaux suivants (figure 132) :

- les protons *méso* vers 10 ppm,
- les protons vinyliques entre 6,1 et 8,4 ppm,
- les protons du bras espaceur et du bras aminé entre 2 et 4,4 ppm,
- les protons méthyliques vers 3,5 ppm,
- les protons du Boc vers 1,30 ppm (seulement pour le composé protégé **21**),
- les protons NH pyrroliques internes entre -4,3 et -4,6 ppm.

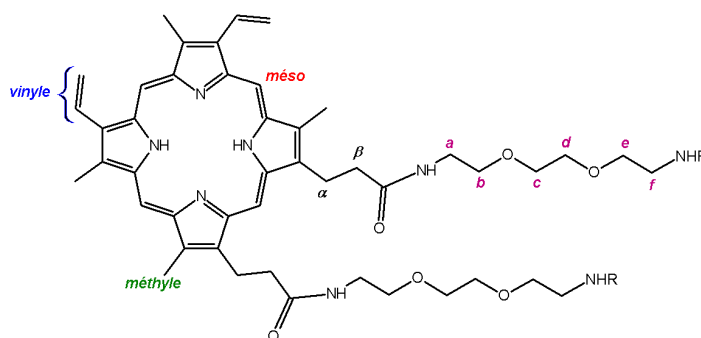


Figure 132 : Numérotation adoptée pour la description des spectres RMN des dérivés protoporphyriniques.

Les déplacements chimiques observés en RMN ^1H sont présentés au tableau 19. La protoporphyrine IX modifiée **21** montre quatre protons H *méso* vers 9,80 ppm et résonnent sous la forme d'un singulet. Les protons CH vinyliques résonnent sous la forme de deux double doublets à 8,12 et à 8,10 ppm ($J_3 = 17,5$ et $11,5$ Hz). Les protons CH_2 vinyliques, quant à eux, apparaissent sous la forme de deux doublets à 6,26 ppm ($J_3 = 17,5$ ppm) et à 6,11 ppm ($J_3 = 11,5$ ppm). Les protons méthyliques sont observables sous la forme de trois singulets à 3,54 (intégrant pour 6H), 3,45 et 3,44 ppm. Les protons du bras espaceur sont retrouvés à 4,24 et 3,45 ppm, respectivement pour les H- α et les H- β , sous la forme d'un multiplet. Concernant les protons du bras aminé, les protons H-a résonnent à 2,09 ppm, le couple H-b,e entre 2,61 et 2,45 ppm, le couple H-c,d à 2,98 ppm et les protons H-f entre 1,77 et 1,53 ppm, sous la forme de multiplets ; on distingue également les protons méthyliques du groupement protecteur Boc à 1,27 ppm et les protons NHBoc à 5,22 et 4,47 ppm. Enfin, les protons NH pyrroliques, se trouvant dans le cône d'anisotropie du macrocycle, sont largement blindés à -4,58 ppm.

Le produit déprotégé **22** montre la disparition des signaux du groupement Boc et l'apparition des signaux des NH_2 libres à 2,19 ppm. Enfin, l'absence du signal correspondant aux protons internes NH pyrroliques n'est pas propre à la molécule mais au solvant deutéré utilisé ; en effet les protons NH pyrroliques s'échangent avec les H labiles du solvant (méthanol deutéré, solvant protique polaire) et par conséquent, ne sont plus visibles sur le spectre.

Tableau 19 : RMN ¹H de la protoporphyrine IX et de ses dérivés **21** et **22**.

H	Protoporphyrine IX ^a	21 ^b	22 ^c
<u>Pyrrole</u>			
H méso	10,12 s ; 10,08 s 10,03 s	9,87 s ; 9,83 s 9,79 s ; 9,69 s	9,96 s ; 9,91 s 9,67 s ; 9,61 s
NH_{int.}	-4,31 s	-4,58 s	-
<u>Vinyle</u>			
CH=CH₂	8,41 dd (17,9-11,5)	8,12 dd (17,5-11,5)	8,34 dd (17,0-11,8)
CH=CH₂	8,38 dd (17,9-11,5)	8,10 dd (17,5-11,5)	8,24 dd (17,0-11,8)
CH=CH₂	6,39 d (17,9)	6,26 d (17,5)	6,39 d (17,0)
CH=CH₂	6,18 d (11,5)	6,11 d (11,5)	6,31 d (11,8)
<u>CH₃ méthyle</u>			
	3,64 s ; 3,62 s 3,56 s	3,54 s ; 3,44 s	3,61 s
<u>Bras espaceur</u>			
CH₂ α	4,29 t (7,2)	4,24 m	4,35 m
CH₂ β	3,16 t (7,3)	3,45 m	3,34 m
<u>Bras aminé</u>			
a	-	2,09 m	2,52-2,46 m
b	-	2,61-2,45 m	2,74-2,69 m
c	-	2,98 m	3,12-3,00 m
d	-	2,98 m	3,12-3,00 m
e	-	2,61-2,45 m	2,74-2,69 m
f	-	1,77-1,53 m	2,30-2,27 m
CH₃ (Boc)	-	1,27 s	-
NHBoc	-	5,22 s ; 4,47 s	-
NH₂	-	-	2,19 s

(a): *d*₆-DMSO, (b): CDCl₃, (c): CD₃OD ; δ en ppm, figure, (J en Hz).

4- Fonctionnalisation de la cellulose par polymérisation radicalaire

La réaction de polymérisation radicalaire a été adaptée des travaux de Gupta et coll.^[188] qui ont reporté la polymérisation en milieux aqueux de l'acrylate d'éthyle sur la cellulose en présence de cérium ammonium nitrate (CAN) comme amorceur. Nous avons développé la polymérisation radicalaire de l'acide méthacrylique sur le tissu cellulosique en choisissant une température optimale de réaction de 35 °C et une concentration en acide nitrique constante de 0,08 M (figure 133).

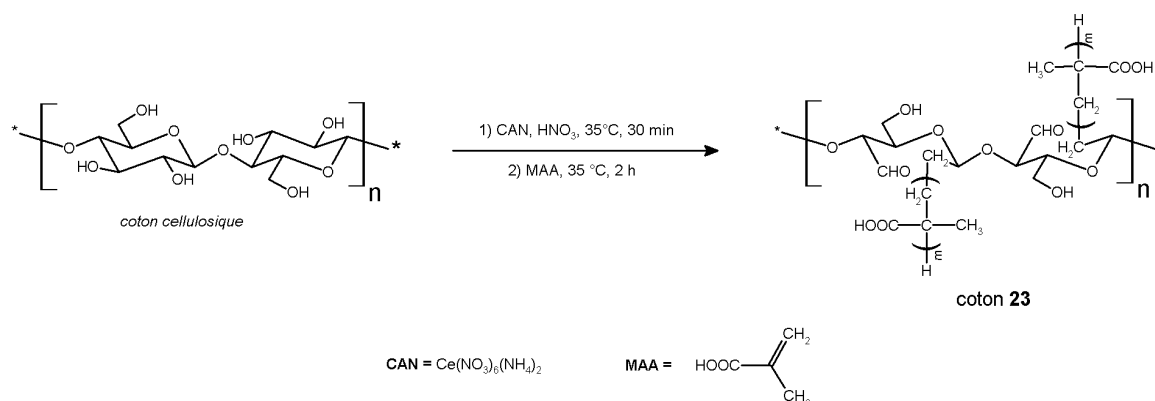


Figure 133 : Polymérisation radicalaire de l'acide méthacrylique sur la cellulose.

Après formation d'un radical cellulosique amorcé par le CAN dans l'acide nitrique, la polymérisation de l'acide méthacrylique amène au bout de 2 heures au coton **23** avec un taux de greffage de 10%.

Le taux de greffage de la réaction de polymérisation a été calculé à partir de la masse sèche du tissu initial et du tissu greffé selon le rapport suivant,

$$\frac{(\text{Masse tissu greffé} - \text{Masse tissu non greffé})}{\text{Masse tissu non greffé}} \times 100$$

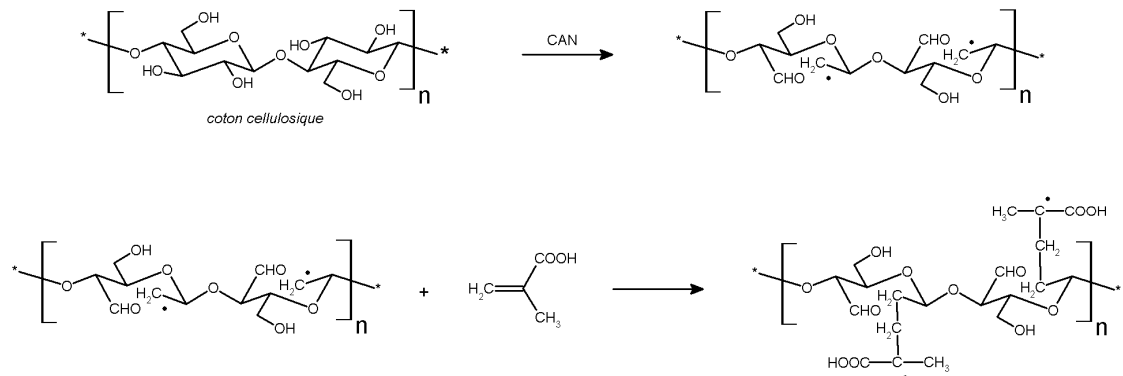
4-1- Mécanisme

Les différentes étapes sont l'amorçage, la propagation et la terminaison (figure 134). L'amorçage est l'étape permettant de générer un radical, dit primaire, suivi de l'addition de la première unité monomère. L'amorceur de radical, l'ion Ce^{4+} initie une coupure oxydative de la liaison C_2-C_3 des unités anhydroglucose de la cellulose avec d'une part formation d'une fonction aldéhyde et formation d'un radical d'autre part. Le cérium (IV) employé comme initiateur permet la formation du radical à des températures modérées (entre 20 et 60 °C par exemple). L'addition de la première unité acide méthacrylique sur le radical cellulosique se fait par une rupture homolytique de la liaison π éthylénique de l'acide méthacrylique pour former le premier "maillon" de la chaîne polyméthacrylique

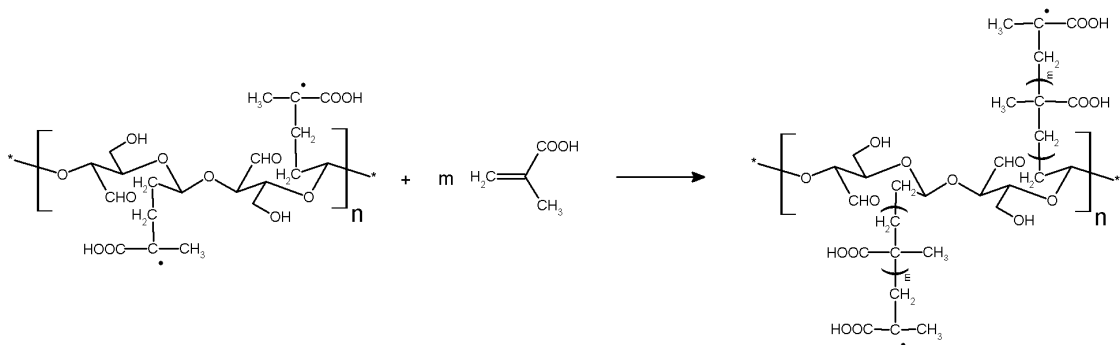
^[188] Gupta K.C., Sahoo S., Khandekar K., *Biomacromolecules*, **2002**, 3, 1087-1094.

en croissance. La propagation est l'étape de polymérisation durant laquelle le polymère va croître par additions successives d'unité acide méthacrylique pour former la chaîne polyméthacrylique. Enfin, l'étape de terminaison stoppe le processus de polymérisation par une réaction de transfert d'hydrogène. Il s'agit d'une possibilité parmi toutes les recombinaisons qui peuvent s'effectuer lors de cette étape.

Amorçage



Propagation



Terminaison

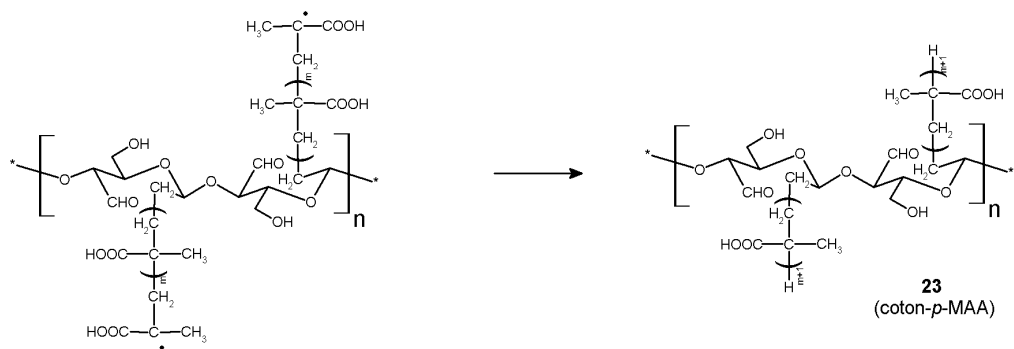


Figure 134 : Mécanisme de polymérisation radicalaire de l'acide méthacrylique sur la cellulose.

4-2- Effet de l'acide méthacrylique

L'influence de la concentration en acide méthacrylique a été évaluée en faisant varier sa concentration finale dans le milieu réactionnel entre 0,1 et 1 M. Les résultats obtenus sont présentés sur la figure 135.

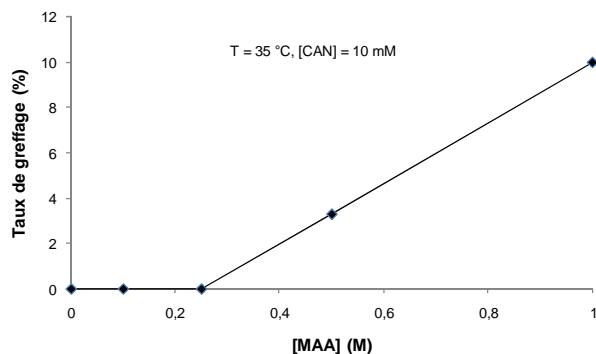


Figure 135 : Influence de la concentration en acide méthacrylique sur le taux de greffage.

En nous basant sur les conditions optimales de polymérisation déterminées par Gupta,^[188] nous avons choisi pour cette étude de fixer la température de réaction à 35 °C et la concentration en CAN à 10 mM. Le meilleur taux de greffage (10 %) a été obtenu pour une concentration en acide méthacrylique de 1 M. Des essais, avec des concentrations en acide méthacrylique supérieures à 1 M, se sont avérés décevants en raison de la polymérisation de l'acide méthacrylique formant un gel d'acide polyméthacrylique, interdisant sa croissance sur la cellulose.

4-3- Effet de la concentration en cérium (IV)

L'influence de la concentration en cérium (IV) a été évaluée en faisant varier la concentration finale en ions Ce^{4+} dans le milieu réactionnel entre 5 et 40 mM. Les résultats obtenus sont présentés sur la figure 136.

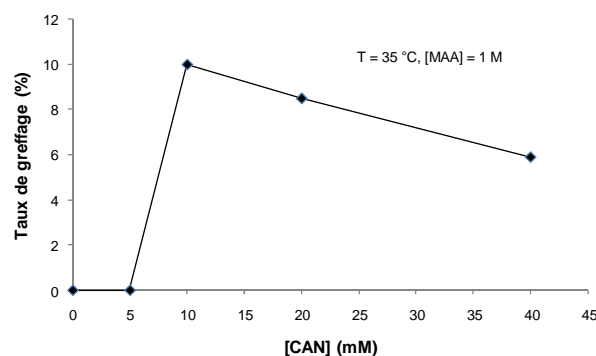


Figure 136 : Influence de la concentration en cérium (IV) sur le taux de greffage.

D'après les résultats précédemment obtenus sur l'effet de l'acide méthacrylique, l'étude a été réalisée à une température de 35 °C et à une concentration en acide méthacrylique de 1 M. Une concentration en CAN de 10 mM a permis d'obtenir le meilleur taux de greffage, et pour des concentrations plus importantes, le taux de greffage chute considérablement.

Ces études (influence de la concentration en acide méthacrylique et en cérium) nous ont permis de déterminer des conditions optimales de réaction, à savoir une concentration en acide méthacrylique de 1 M et une concentration en CAN de 10 mM.

5- Tissus protoporphyriniques

La fixation de la protoporphyrine IX aminé **22** sur le coton polyméthacrylique **23** est réalisée selon le même principe que le couplage peptidique entre le bras aminé **20** et la protoporphyrine IX. La réaction amenant au tissu protoporphyrinique est présentée sur la figure 137.

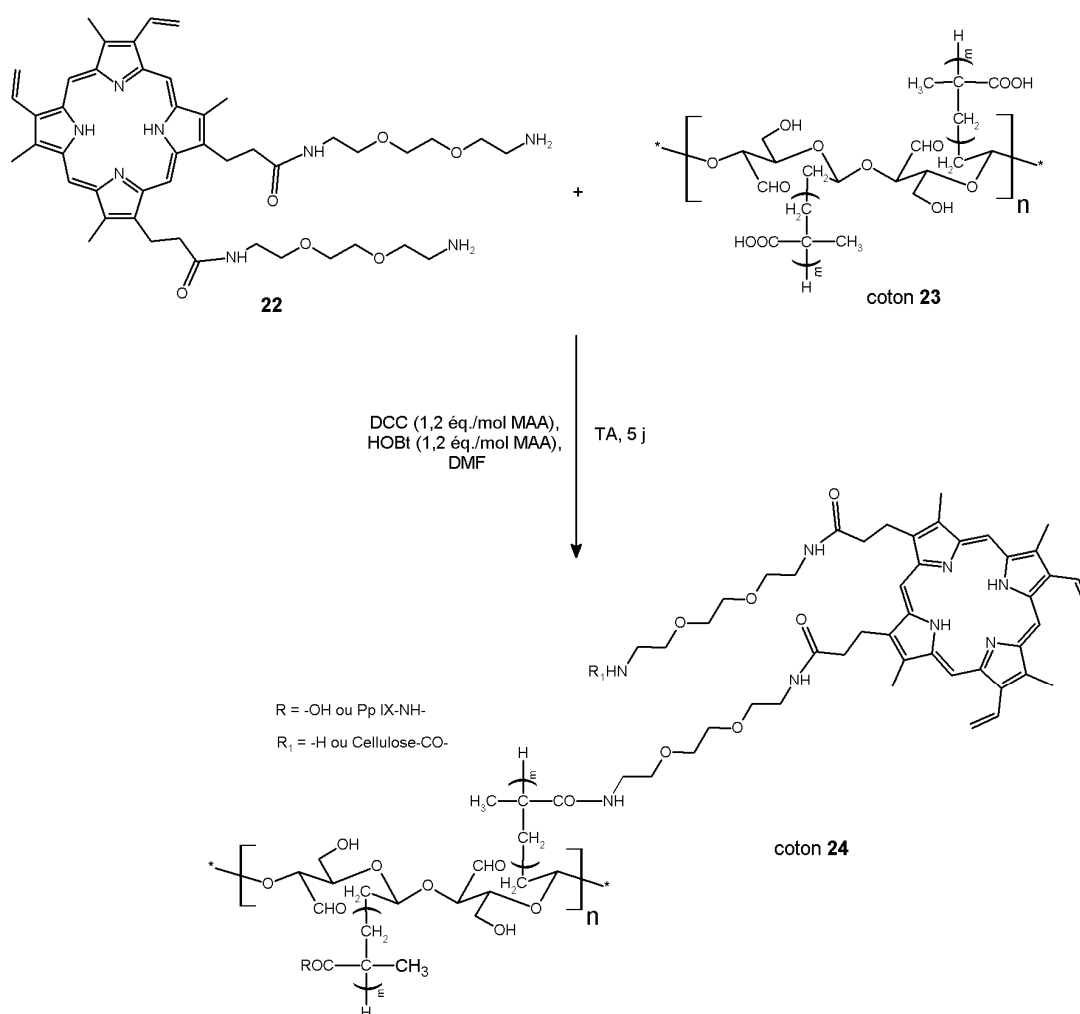


Figure 137 : Greffage du dérivé protoporphyrinique **22** sur le coton polyméthacrylique **23**.

Le coton **23** polyméthacrylique est mis en présence du couple DCC/HOBt (1,2 éq./mol MAA) afin d'activer les fonctions acides en ester d'HOBt. L'ajout du dérivé protoporphyrinique **22** amène après 5 jours de réaction à température ambiante au tissu protoporphyrinique **24**.

La détermination de la quantité en photosensibilisateur greffé a été réalisée comme il a été décrit dans les chapitres précédents, par un dosage UV-Visible de la solution de greffage. Les résultats de la quantité en acide méthacrylique pour le coton **23** ainsi que la quantité d'actif par carré de coton et du taux de greffage obtenus pour le cotons **24** sont reportés au tableau 20.

Tableau 20 : Dosage quantitatif par UV-Visible.

Cotons	Quantité de MAA (par carré de coton)	Quantité initiale en porphyrine	Quantité d'actif (par carré de coton)	Taux de greffage (%)
23^a	2 mmol	-	-	10 (% massique)
24	-	18,3 μ mol	0,83 μ mol	4,5 (% molaire)

(a) valeurs non obtenues par dosage UV-Visible.

Les données obtenues pour le coton **23** (fonctionnalisé par l'acide méthacrylique) sont indiquées afin de discuter de la démarche entreprise lors du greffage du dérivé protoporphyrinique **22**. En effet, la quantité greffée en MAA par carré de coton est égale à 2 mmol, la quantité initiale théorique et idéale en photosensibilisateur aurait du être au moins égale à cette valeur. Pour des raisons purement techniques, nous avons été dans l'incapacité de produire la quantité idéale requise. Cependant avec 0,01 éq. de dérivé protoporphyrinique par rapport à la quantité de MAA initiale, nous obtenons un taux de greffage (exprimé en % molaire) égal à 4,5%, valeur correspondante au pourcentage de fonction acide carboxylique couplée par le dérivé diamine. Des taux de greffage similaires (de l'ordre de 6%) ont été obtenus pour le greffage de protoporphyrine IX modifiée sur du nylon fonctionnalisé par l'acide polyacrylique PAA.^[189] Ces taux de greffage relativement faible s'expliquent par la différence de taille entre le dérivé protoporphyrinique et le motif répétitif acide méthacrylique.

5-1- Caractérisations des surfaces

5-1-1- IR par réflectance (ATR-FTIR)

Le spectre ATR-FTIR du coton **23** présente un signal à 1704 cm^{-1} , caractéristique des vibrations d'élongations des fonctions acide carboxylique, plus précisément le groupement carbonyle C=O, des unités MAA. Ce signal atteste de l'efficacité de la réaction de polymérisation radicalaire du

^[189] Bozja J., Sherrill J., Michielsen S., Stojiljkovic I., *J. Polym. Sci. Pol. Chem.*, **2003**, 41, 41-47.

MAA sur le coton. Pour le spectre du coton protoporphyrinique **24**, le signal correspondant aux groupements carbonyles des fonctions acides (ici 1710 cm^{-1}) est de moindre intensité ; cette différence d'intensité est à corrélérer avec l'apparition d'un signal à 1650 cm^{-1} caractéristique des vibrations d'élongations des fonctions C=O relatifs aux amides (Figure 138).

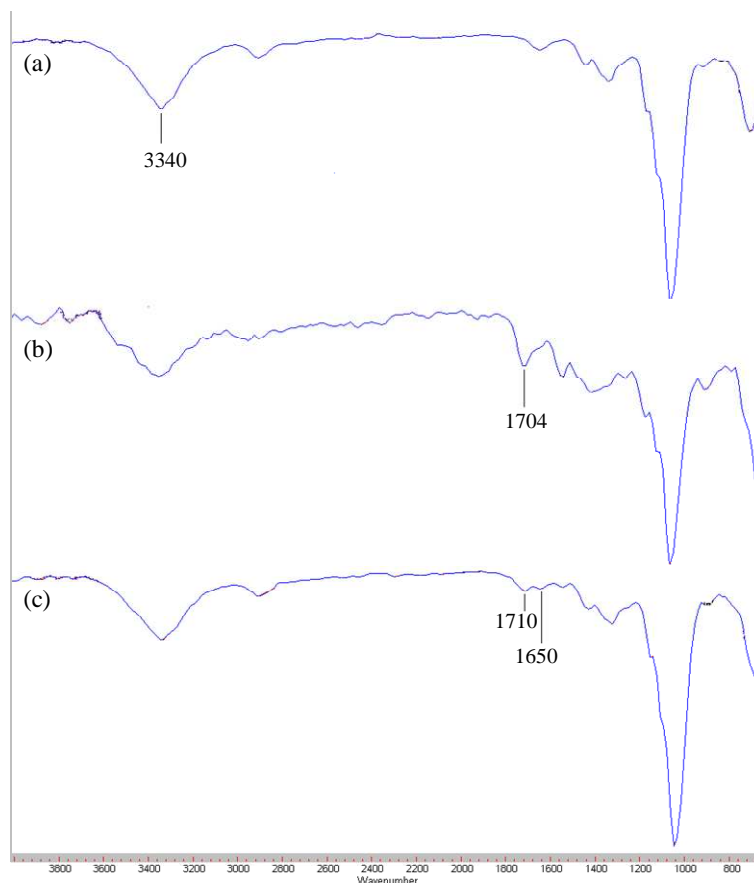


Figure 138 : Spectre ATR-FTIR comparatif du (a) coton natif et des cotons modifiés, (b) **23** et (c) **24**.

Comme dans le cas des tissus porphyriniques obtenus par "Click-Chemistry", la caractérisation du greffage covalent est indirecte puisque le dérivé protoporphyrinique **22** possède des fonctions amides ; cependant la baisse notable de l'intensité du signal correspondant aux fonctions acide carboxylique montre que ces dernières ont bien été engagées partiellement dans la formation du lien amide.

5-1-2- UV-Visible par réflectance diffuse (DRUV)

Comme dans le cas des tissus triazinyl porphyriniques et des tissus tritolylporphyriniques, présentés dans les chapitres précédents, l'allure du spectre UV-Visible est similaire à celui du composé **22** en solution (figure 139).

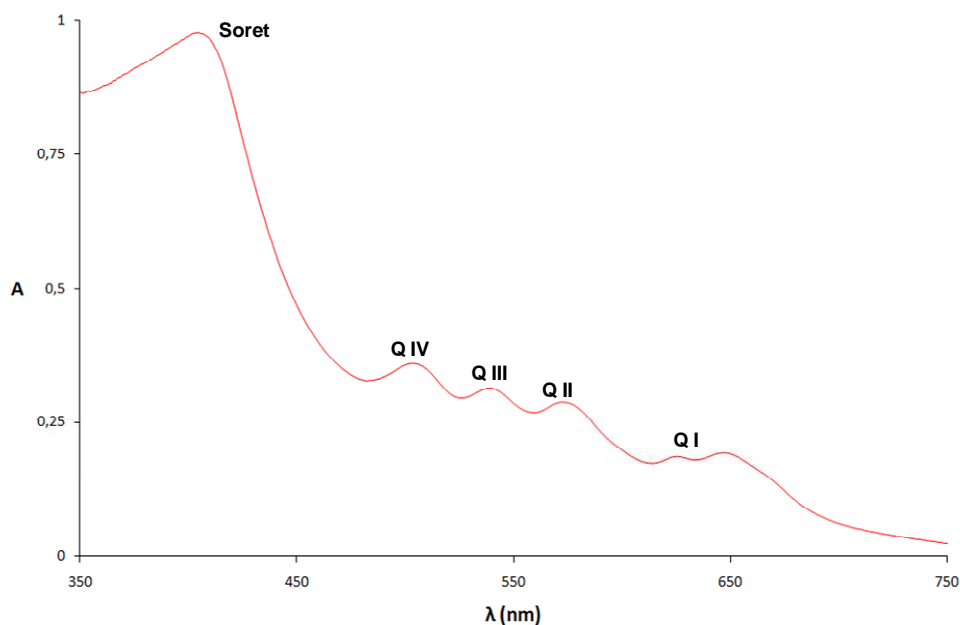


Figure 139 : Spectre UV-Visible du coton protoporphyrinique **24**.

Les principaux signaux correspondant à l'absorption du photosensibilisateur sont mis en évidence ; en effet, la bande de Soret vers 405 nm et les bandes Q entre 500 et 630 nm apparaissent clairement. Les valeurs exactes des maxima d'absorption (porphyrines libres en solution et porphyrines supportées sur la cellulose) sont résumées au tableau 21.

Tableau 21 : Données électroniques des maxima d'absorption en UV-Visible.

Composés	Soret (nm)	Q (nm)
22	402	503, 537, 574, 629
coton 24	405	505, 540, 574, 629

Pour le coton **24**, le spectre montre un léger effet bathochrome (déplacement de 402 à 405 nm), pour la bande de Soret, par rapport à celui du composé **22**. Ce léger déplacement, comme dans les cas précédents, est la conséquence du caractère greffage covalent de la part du photosensibilisateur. Les observations sont sensiblement identiques à ceux reportées pour les cotons **12**, **13** et **14**, utilisant le dérivé 1,3,5-triazine comme agent de greffage, et pour le coton **19** obtenu par la méthodologie de "Click-Chemistry".

5-1-3- Analyse thermogravimétrique (ATG)

Les courbes ATG obtenues pour le coton **23** et **24** sont comparées à celle du coton non modifié comme dans les chapitres précédents et sont présentées sur la figure 140.

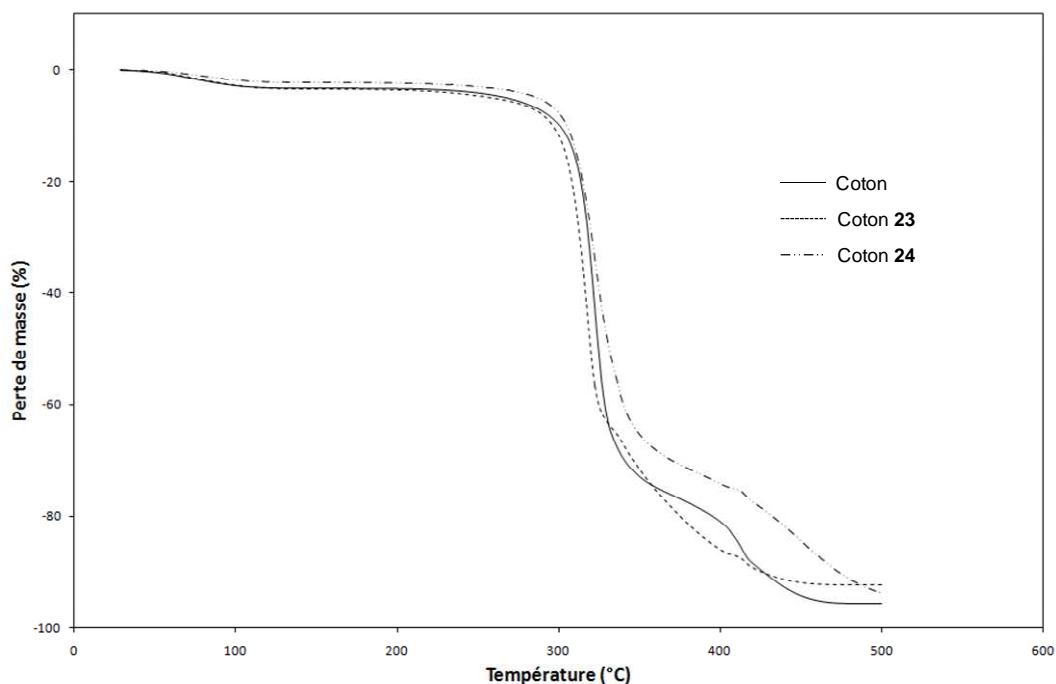


Figure 140 : Courbes ATG.

Les courbes obtenues présentent une allure similaire à celles obtenues pour les tissus triazinyl porphyriniques et les tissus tritolylporphyriniques décrites dans les chapitres précédents. Pour le coton **23**, aucune différence significative n'est observée malgré la présence du MAA polymérisé en surface. Cette modification chimique n'influe pas la stabilité thermique du matériel. Pour le coton protoporphyrinique **24**, la courbe suit celle du coton initial jusqu'à 300 °C avec une perte de masse identique ; aux plus hautes températures, la perte de masse s'effectue en plusieurs étapes et s'explique par la décomposition du photosensibilisateur, la coupure du lien amide et la décomposition du matériel.

De façon générale, le coton protoporphyrinique **24** est plus stable thermiquement par rapport aux différents cotons élaborés précédemment ; la présence du lien amide semble diminuer la sensibilité thermique.

5-1-4- Microscopie électronique à balayage (MEB)

Comme dans les chapitres précédents, les cotons modifiés ont été caractérisés par microscopie électronique à balayage (figure 141).

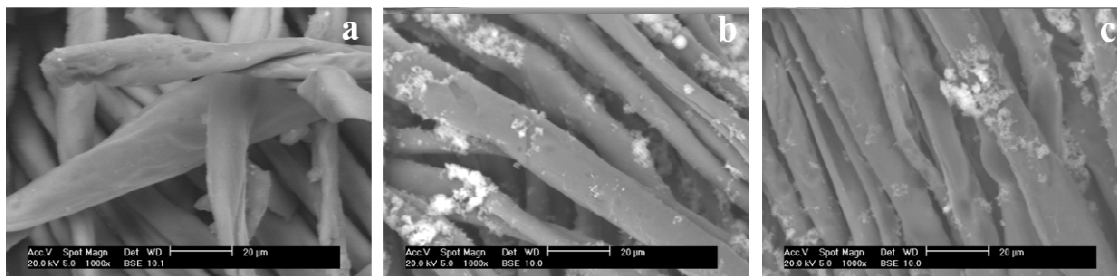


Figure 141 : Photographie MEB : (a) coton initial, (b) coton-MAA **23** et(c) coton protoporphyrinique **24**.

La polymérisation de l'acide méthacrylique (coton **23**) est observable par des amas blancs sur les fibres de cellulose, et ceux-ci de façon non homogène pouvant s'expliquer par le faible rendement massique de la réaction (10%). Pour le coton protoporphyrinique **24**, le greffage ne modifie pas la morphologie du coton polymérisé. Pour cette méthode de greffage, l'analyse MEB des surfaces permet de confirmer l'efficacité de la réaction de polymérisation radicalaire du MAA sur le coton en supplément de l'analyse ATR-FTIR et DRUV.

Dans les différentes stratégies développées, la caractérisation en MEB montre que la modification chimique n'affecte pas la structure initiale des fibres de cellulose ; l'aspect général, la morphologie, le diamètre sont conservés.

6- Conclusions

De nouvelles surfaces cellulosiques protoporphyriniques ont pu être élaborées de façon originale par l'utilisation d'un dérivé de porphyrine naturelle, la protoporphyrine IX. Une méthode de polymérisation radicalaire pour fonctionnaliser le coton cellulosique a été développée et a demandé une étude approfondie des conditions optimales de réaction. Les méthodes classiques de couplage peptidique ont été utilisées afin de modifier la protoporphyrine IX et de fixer cette dernière sur le coton cellulosique préalablement modifié. Malgré le taux de greffage en photosensibilisateur relativement faible, l'efficacité d'une telle stratégie a pu être mise en évidence par les analyses ATR-FTIR, DRUV et aussi MEB des surfaces modifiées.

Comme dans les chapitres précédents, ce nouveau type de tissu cellulosique a été élaboré dans le but d'évaluer son activité antibactérienne et de pouvoir la comparer avec celles obtenues sur les différents tissus triazinyl et triazolyl porphyriniques.

Chapitre V Étude de la photoinactivation bactérienne

L'étude quantitative de l'activité antibactérienne des différents tissus porphyriniques élaborés a été évaluée *in vitro* sur deux souches représentatives, *Staphylococcus aureus* (bactérie à Gram positif) et *Escherichia coli* (bactérie à Gram négatif). Au préalable, nous avons évalué l'aptitude des précurseurs porphyriniques à produire de l'oxygène singulet, cette espèce étant l'agent toxique, responsable de la destruction des bactéries, connu en PACT. Quelques informations sur l'importance de la source lumineuse utilisée puis les résultats de photoinactivation bactérienne seront également exposés. Enfin, quelques hypothèses seront avancées quant au mode d'action de la photodestruction des cellules bactériennes par des surfaces photoactivables.

1- Production d'oxygène singulet

L'aptitude des composés **2**, **3**, **7**, **17** et **22** à produire de l'oxygène singulet a été réalisée par la mesure de son rendement quantique, $\Phi (^1O_2)$, au sein de l'équipe du Docteur Céline Frochot du DCPR, UMR 7630 à Nancy. Après excitation à 415 nm des photosensibilisateurs à l'aide d'une lampe Xénon à arc, la luminescence de l'oxygène singulet est mesurée à 1270 nm. Les rendements quantiques en oxygène singulet ont été déterminés dans l'éthanol, en utilisant le Rose de Bengale comme référence (tableau 22).^[190]

Tableau 22 : Rendement quantique en oxygène singulet.

<i>Composés</i>	$\Phi (^1O_2)$
2	0,65
3	0,59
7	0,82
17	0,79
22	0,81
Rose de Bengale	0,68

Tous les composés testés produisent de l'oxygène singulet, les valeurs obtenues de rendement quantique sont équivalentes ou supérieures à la valeur de référence obtenue pour le Rose de Bengale, sauf pour le composé **3**. Ces composés représentent donc de bons candidats pour une application en PACT.

^[190] DeRosa M.C., Crutchley R.J., *Coordin. Chem. Rev.*, **2002**, 233-234, 351-371.

2- Importance de la source lumineuse

La source lumineuse utilisée de type LED a la caractéristique d'émettre de la lumière blanche (domaine du visible). Le spectre d'émission de la source lumineuse est présenté sur la figure 142. Ce type de matériel a été choisi au vue de l'allure de son spectre d'émission. En effet, il est superposable avec un spectre d'absorption classique des porphyrines utilisées. Une émission intense dans la zone 400-450 nm et une émission moindre dans la zone 500-700 nm vont permettre une excitation maximale, aux longueurs d'onde correspondantes à la bande de Soret et aux bandes Q, du photosensibilisateur.

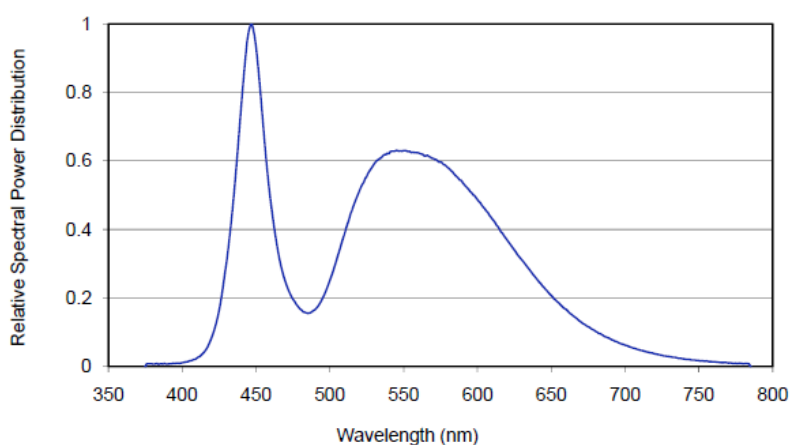


Figure 142 : Spectre d'émission de la source LED utilisée dans le dispositif PACT.

L'intensité lumineuse fournie par une LED a été mesurée à l'aide d'un luxmètre (690 lux). Le flux lumineux correspondant est de 0,11 mW/cm² (1 lux = 1,61.10⁻⁷ W/cm²). La fluence, qui correspond à une dosimétrie (indispensable pour des applications biologiques), est fonction du temps d'irradiation (ici 24 h ou 8,64.10⁴ s) et est égale à 9,5 J/cm². Les différentes caractéristiques lumineuses sont résumées au tableau 23.

Tableau 23 : Caractéristiques de l'irradiation lumineuse du dispositif PACT.

<i>Intensité lumineuse</i>	<i>690 lux</i>
<i>Flux lumineux</i>	<i>0,11 mW/cm²</i>
<i>Fluence ou Dosimétrie</i>	<i>9,5 J/cm²</i>

D'après les données de la littérature, la lumière visible peut entraîner, selon la fluence utilisée, un effet phototoxique sur les microorganismes de type *Staphylococcus aureus* ou *Pseudomonas aeruginosa*.^[191] En effet, la lumière blanche (400-800 nm) est capable de détruire 60 à 96,5 % des souches *S. aureus* à 90 J/cm² alors que pour une fluence plus élevée (180 J/cm²), l'effet bactéricide peut s'avérer total. En revanche, la croissance bactérienne n'est pas affectée pour une fluence égale ou inférieure à 18 J/cm².

Ces observations montrent que la fluence utilisée modifie fortement la croissance bactérienne et afin de s'affranchir d'une possible inactivation par la lumière (dans notre cas la lumière blanche) une fluence inférieure ou égale à 18 J/cm² est recommandée. Il semble donc que notre système d'illumination soit très bien adapté pour une étude en photothérapie dynamique antimicrobienne.

3- Photoinactivation bactérienne

Afin d'évaluer de façon quantitative la photoinactivation des souches *Staphylococcus aureus* (Gram⁺) et *Escherichia coli* (Gram⁻), nous avons développé une technique dérivant d'un protocole normé ("ATCC Test Method 100-1999, *Antibacterial Finishes on Textile Materials : Assessment of*") habituellement utilisé pour mesurer l'activité antibactérienne de textiles. Cette mise au point a été adaptée à nos besoins afin d'inclure le paramètre "irradiation lumineuse". Les étapes indispensables (contrôles) sont la détermination du nombre d'Unité Formant Colonie (UFC) par carré de tissus ; immédiatement après contact (t = 0), après 24 heures d'incubation sous irradiation lumineuse et à l'obscurité (tissu non traité) et après 24 heures d'incubation à l'obscurité (tissu porphyrinique).

3-1- Tissus triazinyl porphyriniques

Les résultats concernant l'évaluation photobactéricide des tissus triazinyl porphyriniques neutre (coton **12**), anionique (coton **13**) et cationique (coton **14**) sont présentés sur la figure 143. Les différents contrôles effectués représentent des contrôles négatifs. En effet, l'ensemble des échantillons non traités (à l'obscurité et sous irradiation) et traités (à l'obscurité) montrent une croissance bactérienne de 4 logs par rapport à la référence (t = 0, indiquant le nombre de bactéries initialement déposées sur un carré de textile). Ces contrôles permettent d'affirmer que la dose lumière utilisée (9,5 J/cm²) n'a aucune influence sur la croissance bactérienne.

^[191] Lipovsky A., Nitzan Y., Friedmann H., Lubart R., *Photochem. Photobiol.*, **2009**, 85, 255-260.

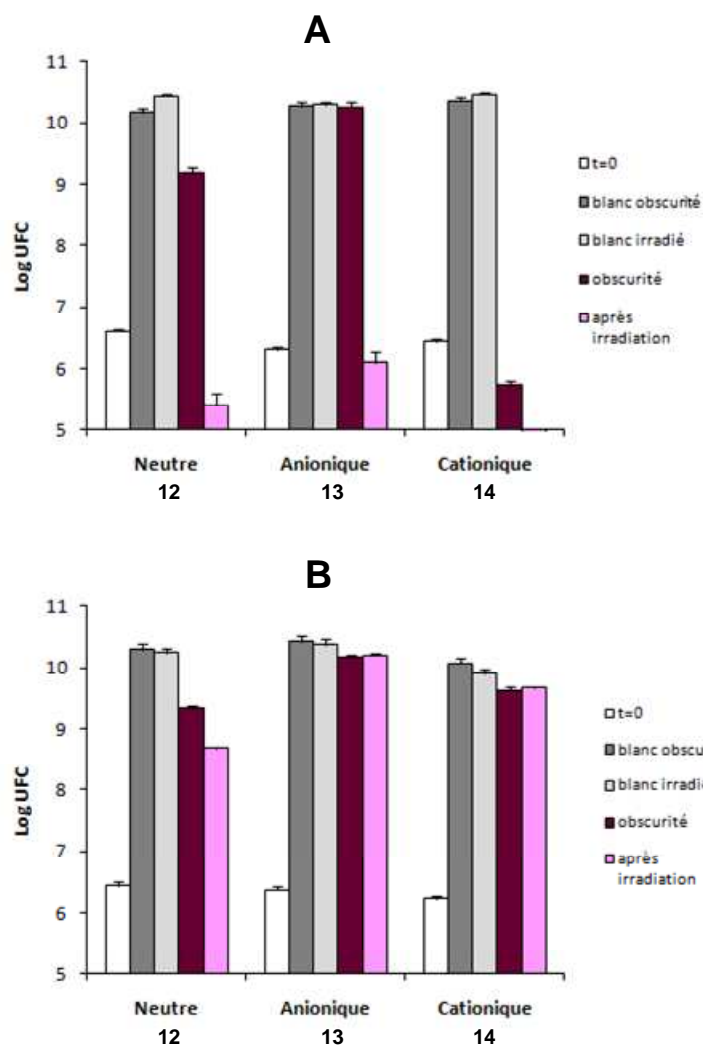


Figure 143 : Mesure de l'activité photobactéricide des tissus triazinyl porphyriniques.
(A : *S. aureus* et B : *E. coli*).

Quelque soit la nature du photosensibilisateur, un effet bactéricide est observé lors de la photoinactivation de *S. aureus*. En effet, le nombre d'UFC est inférieur pour les tissus porphyriniques irradiés par rapport au nombre initial d'UFC ($t = 0$). Cependant les résultats sont différents pour les trois types de coton. Le coton **12** fonctionnalisé par la porphyrine neutre est capable d'inactiver 93,7% des bactéries, le coton **13** anionique 37% et pour le coton **14** cationique l'effet photobactéricide est total. Ces résultats mettent en évidence une relation structure-activité pour la photoinactivation des bactéries Gram⁺; en effet comme dans le cas des porphyrines base libre la charge globale du photosensibilisateur supporté influe sur l'activité, cationique > neutre > anionique. Ces résultats sont conformes avec ceux obtenus dans la littérature mettant en évidence l'importance de la charge globale du photosensibilisateur dans la photoinactivation bactérienne.^[127]

Par contre, pour le coton **14** cationique, une inactivation bactérienne est également retrouvée à l'obscurité, de l'ordre de 80% ; ce résultat bien que surprenant s'explique par le fait que les

ammoniums quaternaires sont bien connus pour être des agents capables de désorganiser la membrane bactérienne même sans irradiation lumineuse.^[6]

En revanche, les trois types de tissus sont incapables d'inactiver la souche *E. coli*. L'ensemble des résultats de photoinactivation des souches est résumé au tableau 24.

Tableau 24 : Photoinactivation des tissus triazinyl porphyriniques.

Coton	% de photoinactivation	
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
Neutre 12	93,7	0
Anionique 13	37	0
Cationique 14	100	0

Le caractère insoluble et supporté du photosensibilisateur peut être lié au fait que la génération d'espèces réactives telles que l'oxygène singulet à la surface du matériel intervient dans le mécanisme de photoinactivation. Midden et coll.^[138] ont montré qu'une photoinactivation de type II, impliquant l'oxygène singulet, était capable de causer des dommages irréversibles de l'enveloppe membranaire sans que le photosensibilisateur ne pénètre au sein de la cellule bactérienne. Ces observations démontrent l'implication du processus photochimique de type II pour les surfaces élaborées dans l'inactivation des cellules bactériennes.

En ce qui concerne la différence d'activité sur les bactéries à Gram⁺ et Gram⁻, un mécanisme de photoinactivation bactérienne par des photosensibilisateurs supportés est proposé (figure 144). Ainsi, le rendement quantique en oxygène singulet des photosensibilisateurs utilisés suit l'ordre suivant, cationique > neutre > anionique. Il est donc directement fonction de la nature du photosensibilisateur (tableau 22).

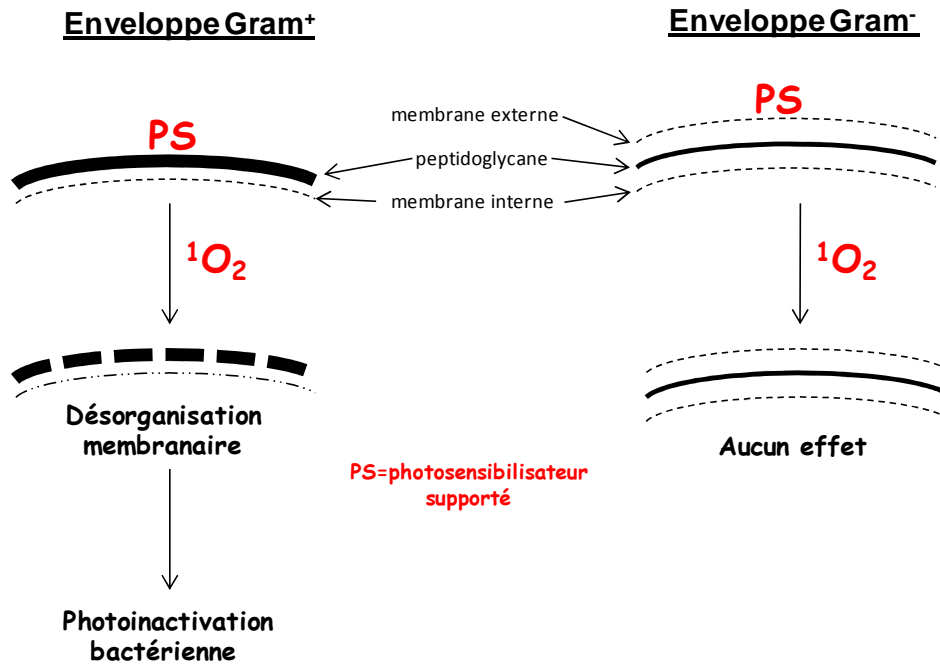
D'un point de vue mécanistique, le point de départ se situe dans l'interaction du photosensibilisateur et de l'enveloppe bactérienne.^[123] En effet, le PS étant supporté il ne peut pénétrer au sein de la bactérie contrairement aux PS classiques libres. La charge globale à la surface de la bactérie étant négative, la nature du photosensibilisateur va directement influencer sur les interactions électrostatiques ; en effet le composé cationique aura de plus fortes interactions avec l'enveloppe bactérienne que le composé neutre et lui-même que le composé anionique. De plus, les porphyrines cationiques sont connues pour jouer un rôle dans la désorganisation membranaire,^[129] à l'obscurité les tissus cationiques sont capables de détruire 80% des bactéries *S. aureus* alors qu'à la lumière un effet bactéricide total est observé. Ces observations permettent de mettre en évidence l'action synergique photosensibilisateur (PS)/¹O₂.

Pour la souche *S. aureus*, l'absence de membrane externe joue un rôle primordial dans leur destruction. En effet, après irradiation lumineuse l'oxygène singulet produit par les photosensibilisateurs est capable de diffuser,^[138] (jusqu'à 0,65 mm dans l'air) puis d'interagir directement avec le peptidoglycane, de structure peptido-glucidique. Cette interaction $^1\text{O}_2$ -peptidoglycane va provoquer sa désorganisation affectant ainsi l'organisation de la membrane interne. La désorganisation totale de l'enveloppe bactérienne est suivie d'une lyse de la bactérie entraînant sa mort. Ces observations où l'action de l'oxygène singulet est quasi exclusive (sa production dépend tout de même de la nature du PS) expliquent le mode d'action des tissus neutres et anioniques. En revanche, pour les tissus cationiques le mécanisme ne fait pas intervenir que l'oxygène singulet puisqu'ils sont capables de détruire les bactéries à l'obscurité ; l'action simultanée du PS cationique et de l'oxygène singulet sont responsables de la destruction des cellules bactériennes.

Le mécanisme de photoinactivation des bactéries à Gram⁺ peut être résumé en cinq étapes :

- Action synergique PS/ $^1\text{O}_2$,
- Diffusion de $^1\text{O}_2$,
- Interaction $^1\text{O}_2$ /peptidoglycane provoquant sa désorganisation,
- Désorganisation de l'enveloppe bactérienne,
- Mort bactérienne par lyse cellulaire.

En revanche pour *E. coli*, la présence d'une membrane externe explique sa résistance.^[124] En effet, par sa nature phospholipidique et par la présence de biomolécules (lipoprotéines, lipolysaccharides...), elle représente une barrière pour les molécules environnantes (figure 144). Les photosensibilisateurs utilisés et l'oxygène singulet sont incapables de désorganiser l'enveloppe bactérienne d'une organisation structurale bien plus complexe que celle des bactéries Gram⁺.



Proximité PS-enveloppe bactérienne

- Action synergique nature du PS/ 1O_2
 - Diffusion de 1O_2
 - Interaction 1O_2 -peptidoglycane
- Désorganisation de l'enveloppe bactérienne
 - Mort bactérienne

Aucun effet sur la membrane externe

Figure 144 : Mécanisme proposé pour la photoinactivation bactérienne par des photosensibilisateurs supportés.

3-2- Tissus triazolyl porphyriniques

L'étude de l'activité antibactérienne des tissus tritolylporphyriniques **19** obtenus par la méthodologie "Click-Chemistry" a également été réalisée. Les résultats sont présentés sur la figure 145.

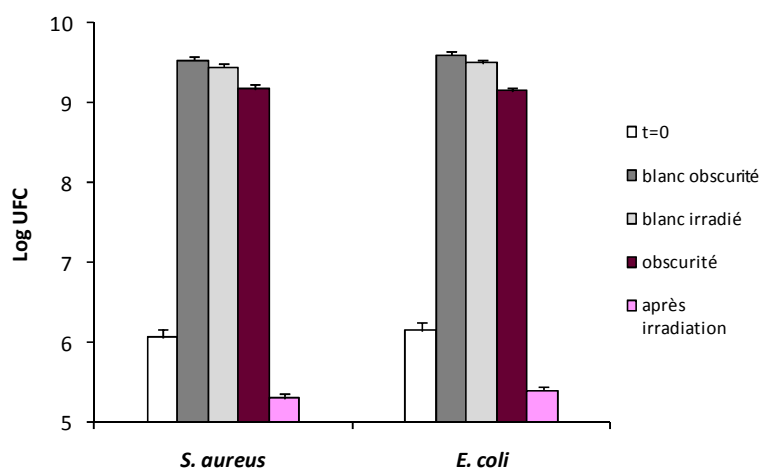


Figure 145 : Mesure de l'activité photobactéricide des tissus triazolyl porphyriniques.

Comme dans le cas des tissus triazinyl porphyriniques, les tissus triazolyl porphyriniques possèdent un effet bactéricide vis-à-vis de *S. aureus*, la photoinactivation est de 83%. En revanche, un effet photobactéricide de 82% est également observé sur *E. coli*. Ce résultat ne remet pas en cause le mode d'action précédemment proposé mais trouve son explication dans la différence structurale du photosensibilisateur utilisé. En effet, la présence du zinc chélaté par les azotes internes pyrroliques du photosensibilisateur peut donner un élément de réponse. Récemment, les travaux de Pavani ^[192] ont mis en évidence la forte affinité des porphyrines au zinc (II) avec la membrane de cellules cancéreuses HeLa par complexation avec les groupes phosphates des phospholipides. L'étude montre que la phototoxicité dépendant de l'efficacité des interactions membranaires est due à une photooxydation des constituants membranaires. Prenant ces résultats et la similitude structurale de la membrane externe d'*E. coli* avec les membranes cellulaires animales en considération, nous pouvons proposer que ce phénomène a lieu pour la photoinactivation des bactéries à Gram négatif. La présence du zinc est donc responsable de la différence d'activité avec les tissus triazinyl porphyriniques qui quant à eux, présentant une charge globale électrique variée, sont incapables d'inactiver la souche *E. coli*.

^[192] Pavani C., Uchoa A.F., Oliveira C.S., Iamamoto Y., Baptista M.S., *Photochem. Photobiol. Sci.*, **2009**, 8, 233-240.

3-3- Tissus protoporphyriniques

Comme pour les tissus triazinyl (**12**, **13**, **14**) et les tissus triazolyl **19** porphyriniques, l'activité antibactérienne des tissus protoporphyriniques **24** a pu être déterminée et est présentée sur la figure 146.

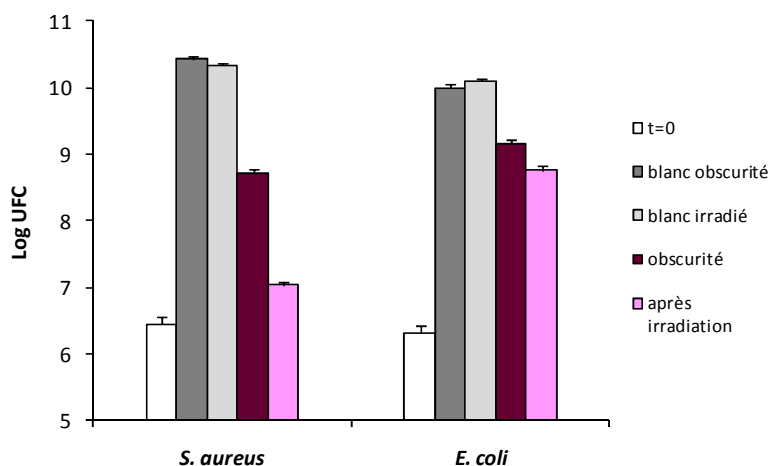


Figure 146 : Mesure de l'activité photobactéricide des tissus protoporphyriniques.

Un effet bactériostatique et non bactéricide est observé sur la souche *S. aureus*, en effet les tissus protoporphyriniques sont capables de ralentir de 98% la croissance bactérienne. Ce ralentissement de la croissance bactérienne et non pas un effet bactéricide peut s'expliquer par le faible taux de greffage obtenu en photosensibilisateur. La quantité de photosensibilisateur fixé est environ 10 fois moins importante par rapport aux 2 autres méthodes. Concernant la souche *E. coli*, aucun phénomène de photodestruction n'a pu être observé renforçant ainsi l'hypothèse du mécanisme proposé ainsi que celle de l'intervention du zinc pour la photoinactivation des bactéries Gram⁻.

4- Conclusions

Les résultats de photoinactivation des deux souches *S. aureus* et *E. coli* sont bien différents selon le tissu porphyriniques testés. La complémentarité de nos différentes stratégies peut être mise en avant ; en effet les tissus triazinyl porphyriniques s'avèrent très efficaces contre les bactéries Gram⁺ (effet bactéricide) alors qu'ils sont inactifs vis-à-vis des bactéries Gram⁻. En revanche, les tissus triazolyl porphyriniques présentent une bonne photoinactivation des bactéries *S. aureus* et *E. coli* (effet bactéricide également) mettant en évidence le rôle du zinc dans le mécanisme de photodestruction des bactéries à Gram⁻. Concernant les tissus protoporphyriniques, ils présentent un effet bactériostatique vis-à-vis de *S. aureus* et aucune activité sur *E. coli*. Ces différentes activités

peuvent être très intéressantes selon les champs d'applications envisagés pour ces nouveaux matériaux photobactéricides.

L'étude de la photoinactivation bactérienne des tissus porphyriniques s'est révélée être très enrichissante pour la compréhension du mode de destruction des cellules bactériennes par des surfaces photoactivables.

Conclusion générale et perspectives

Conclusion générale et perspectives

Au cours de ce travail, nous avons réalisé pour la première fois la préparation de tissus cellulosiques fonctionnalisés par des photosensibilisateurs de type porphyrine afin de créer des surfaces photobactéricides. Plusieurs stratégies originales ont été mise en œuvre pour établir un lien covalent entre le support cellulosique et le photosensibilisateur. Nous avons développé des tissus triazinyl *méso*-arylporphyriniques par fixation de dérivés aminoporphyriniques de nature neutre, anionique et cationique par l'intermédiaire d'un agent de greffage 1,3,5-triazine. Nous avons également développés deux autres méthodes originales de fixation pour la synthèse de tissus triazolyl *méso*-tritolylporphyriniques par la méthodologie "Click-Chemistry" et de tissus protoporphyriniques par l'utilisation d'un dérivé naturel, la Pp IX. Lors de cette dernière stratégie, nous avons mis au point une réaction de polymérisation radicalaire de l'acide méthacrylique sur le coton cellulosique pour permettre le couplage peptidique avec un dérivé protoporphyrinique. Les précurseurs porphyriniques ont été caractérisés par les méthodes classiques de spectroscopie (RMN ¹H, UV-Visible, Masse). Les surfaces élaborées ont quant à elles été caractérisées par différentes méthodes spectroscopiques et physico-chimiques (ATR-FTIR, DRUV, ATG et MEB).

Les premiers essais biologiques *in vitro* de photoinactivation bactérienne sur les souches *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* ont été réalisés. Pour les tissus triazinyl *méso*-arylporphyriniques, une relation structure-activité a pu être mise en évidence pour l'inhibition des bactéries Gram positif contrairement aux bactéries Gram négatif où aucun dommage n'a pu être observé. Ces observations nous ont conduits à proposer un mécanisme de photoinactivation bactérienne par des surfaces photoactivables. Les tissus tritolylporphyriniques, quant à eux, sont capables d'avoir un effet photobactéricide aussi bien sur *S. aureus* que sur *E. coli* ; la présence du zinc interviendrait dans le mécanisme de destruction des deux souches étudiées. Enfin les tissus protoporphyriniques sont capables de ralentir, par un effet bactériostatique, la croissance bactérienne de *S. aureus*.

A la suite de ces premiers résultats biologiques satisfaisant, nous envisageons de préparer une gamme de tissus modifiés (via les diverses méthodes employées) présentant une quantité de photosensibilisateur variable, d'étudier l'influence du temps et de la dose d'irradiation. Nous souhaitons également étudier l'activité antibactérienne sur d'autres souches pathogènes Gram⁺ (*Streptococcus pneumoniae*, *Bacillus anthracis*...) ou Gram⁻ (*Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*...) mais aussi la photoinactivation d'espèces fongiques telles que *Candida albicans*. Ces résultats nous encouragent à augmenter l'éventail sur le choix du polymère et donc à poursuivre les travaux sur l'élaboration de nouvelles surfaces photobactéricides. A cet effet, l'utilisation d'autres supports tels que des polymères synthétiques (PET, nylon) ou naturels (amidon, chitosan) est envisageable.

Chapitre VI Partie expérimentale

1- Réactifs et solvants

L'origine des réactifs et des solvants utilisés au cours de ce travail sont présentés au tableau 25. Toutes les puretés ont été testées avec les procédures classiques (point de fusion, traces d'eau mesurées par IR...). Leurs éventuels traitements sont également mentionnés, ils ont été réalisés selon les procédures classiques décrites notamment dans le *Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry* (5^e édition, 1989). Le tissu cellulosique (sans azurant optique) a subi les traitements suivants ; autoclavage, séchage et découpage en surface de 3,5 x 3,5 cm. Il provient de l'entreprise Avelana, France.

Tableau 25 : Réactifs et solvants utilisés.

Réactifs et solvants	Origines	Abréviations communes	Traitements
Acétate d'éthyle 99%	Carlo Erba	AcOEt	-
Acétate de cuivre, monohydraté 98%	Prolabo	Cu(CH ₃ COO) ₂	-
Acétate de zinc	Acros	Zn(CH ₃ COO) ₂	-
Acétonitrile (pour HPLC) 99,9%	Fisher	AcN	-
Acide acétique glacial 99%	Prolabo	-	-
Acide chlorhydrique 37%	Aldrich	HCl _{conc.}	-
Acide méthacrylique 99%	Merck	MAA	-
Acide nitrique 69%	Prolabo	HNO ₃	-
Acide propanoïque 99%	Aldrich	-	-
Acide sulfanilique 98%	Prolabo	-	-
Acide sulfurique 99%	VWR	-	-
Acide trifluoroacétique	Acros	TFA	-
(+) L-ascorbate de sodium	Sigma	NaAsc	-
Azoture de sodium 99%	Fluka	NaN ₃	-
Benzaldéhyde 98%	Prolabo	-	-
Bromure de propargyle (80% dans le toluène)	Sigma-Aldrich	-	-
Carbonate de potassium (étuvé à 100 °C)	Aldrich	K ₂ CO ₃	Etuvé à 100 °C, 24 heures
Cérium ammonium nitrate 98%	Alfa Aesar	CAN	-
<i>para</i> -chloranil 99%	Acros	-	-
Chloroforme 99,9%	SDS	CHCl ₃	-
Chloroforme anhydre	-	-	Distillé sur P ₂ O ₅ puis CaH ₂
Chlorure d'étain, dihydraté 98%	Acros	SnCl ₂	-
Cyclohexane	VWR	-	-
Dichlorométhane 99,8%	SDS	CH ₂ Cl ₂	-
Dichlorométhane anhydre	-	-	Distillé sur P ₂ O ₅ puis CaH ₂
N,N'-dicyclohexylcarbodiimide	Acros	DCC	-
N,N-diisopropyléthylamine 99%	Sigma-Aldrich	DIPEA	-
N,N-diméthylformamide 99%	SDS	DMF	-
N,N-diméthylformamide anhydre 99,8%	Acros	-	-
Di-tert-butyl dicarbonate 97 %	Aldrich	Boc ₂ O	-
Ethanol absolu	VWR	EtOH	-

Ether de pétrole	VWR	EP	-
Ether diéthylique	VWR	Et ₂ O	-
2,2'-(éthylènedioxy)-bis-(éthylamine) 97%	Alfa Aesar	-	-
Hydrogéocarbonate de sodium 99%	Prolabo	NaHCO ₃	Utilisé en solution aqueuse saturée
4-hydroxybenzaldéhyde 99%	Acros	-	-
1-hydroxybenzotriazole 98%	Acros	HOBt	-
Hydroxyde d'ammonium 28-30%	Acros	NH ₄ OH	-
Hydroxyde de sodium 98%	Alfa Aesar	NaOH	-
Iodométhane 99%	Alfa Aesar	CH ₃ I	-
Mésitaldéhyde 98%	Acros	-	-
Méthanol	VWR	MeOH	-
4-nitrobenzaldéhyde 98%	Aldrich	-	-
Pipéridine 99%	Sigma-Aldrich	-	-
Protoporphyrine IX 95%	Sigma-Aldrich	PpIX	-
4-pyridinecarboxaldéhyde 97%	Aldrich	-	-
Pyrrole 98%	Acros	-	Distillé sous pression réduite
Résine basique Dowex 550A	Sigma-Aldrich	-	-
Sulfate de magnésium, trihydraté 99%	SDS	MgSO ₄	-
Tétrabromure de carbone	Acros	CBr ₄	-
Tétrahydrofurane 99%	Carlo Erba	THF	-
<i>para</i> -tolualdéhyde 97%	Acros	-	Distillé sous pression réduite
Toluène 99%	VWR	-	-
2,4,6-trichloro-1,3,5-triazine 99%	Acros	ATC	-
Triéthylamine 99,5%	Acros	Et ₃ N	-

2- Chromatographie

2-1- Chromatographie analytique

L'évolution des réactions ainsi que la pureté des produits sont contrôlées par chromatographie sur couche mince, CCM (silice déposée sur plaque d'aluminium alufolien : gel de silice 60 F₂₅₄ Merck de 0,2 mm d'épaisseur). La révélation des plaques est effectuée,

- soit par observation directe pour les composés colorés,
- soit sous lampe UV (254 nm) pour les composés conjugués,
- soit par vaporisation d'une solution de ninhydrine suivie d'un chauffage à 100 °C pour les produits aminés,
- soit en combinant les différentes techniques.

2-2- Chromatographie préparative

Chromatographie sur colonne : les purifications sont réalisées avec des colonnes de 2 à 5 cm de diamètre, conditionnées sur 20 à 25 cm de hauteur avec de la silice (gel de silice 60 Merck de granulométrie 15 à 40 μm) dispersée dans le mélange éluant choisi.

Chromatographie sur couche mince : les chromatographies sur plaques préparatives sont réalisées par étalement d'un gel de silice (80 g de gel de silice 60 PF₂₅₄ dispersée dans 220 mL d'eau) en une couche de 2 mm d'épaisseur sur six plaques de verre (20 x 20 cm) alignées sur un banc. Après séchage à l'air libre durant 15 heures, les plaques sont finalement activées 2 heures à 100 °C avant usage.

3- Analyses physico-chimiques

3-1- Ultraviolet-visible

Les spectres UV-Visible en solution ont été réalisés sur un spectrophotomètre Perkin Elmer Lambda 25 et ont été effectués dans des cellules de quartz de 1 cm de trajet optique. Tous les spectres ont été réalisés à une concentration voisine de 10^{-5} - 10^{-6} M dans le solvant adéquat. Les longueurs d'onde λ , correspondantes aux absorbances maximales sont exprimées en nm et les coefficients d'absorption molaire ϵ , en $\text{M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$.

Les spectres DRUV sur les tissus modifiés ont été réalisés sur un spectrophotomètre Varian CARY 5000 muni d'une sphère d'intégration, sans conditionnement particulier, au laboratoire SPCTS (UMR 6638 CNRS) de l'université de Limoges.

3-2- Infra-rouge

Les spectres IR ont été réalisés sur un appareil Perkin Elmer FT-IR spectrometer SPECTRUM 1000 sur des échantillons conditionnés en pastilles de KBr. Les nombres d'onde ν sont exprimés en cm^{-1} .

Les spectres ATR-FTIR des tissus modifiés, sans conditionnement au préalable, ont été réalisés sur un appareil Varian 800 FT-IR Scinitar Series muni d'une sphère d'intégration au laboratoire SPCTS de l'université de Limoges.

3-3- Température de fusion

Les températures de fusion ont été mesurées en tubes capillaires sur un appareil Electrothermal IA9100.

3-4- Résonance magnétique nucléaire

Les spectres RMN ont été enregistrés sur un appareil Brücker DPX-400, respectivement à une fréquence de 400,13 MHz pour le proton et de 100,62 MHz pour le carbone, au service commun de l'Université de Limoges. Les déplacements chimiques δ sont exprimés en ppm en prenant le tétraméthylsilane comme référence interne et les constantes de couplage J sont exprimées en Hz. Les abréviations retenues pour nommer les figures sont ; s (singulet), d (doublet), dd (double doublet), t (triplet), q (quadruplet), m (multiplet). Les figures élargies comportent un "él" en indice.

3-5- Spectrométrie de masse

Les spectres de masse ont été effectués à l'IPCM (UMR 7201 CNRS) de l'Université Pierre et Marie Curie, Paris VI par le Dr. Sandra Alves. Les spectres MALDI ont été obtenus par désorption laser avec un spectromètre à temps de vol Voyager Elite (Framingham MA, USA) équipé d'un laser d'azote 337 nm (VSL 337ND). Les spectres ESI ont, quant à eux, été réalisés en mode positif avec un spectromètre à capture d'ions Esquire 3000 (Bruker Daltonics, Bremen, Germany) équipé d'une source ESI (Analytica Bradford, CT, USA).

3-6- Analyse thermogravimétrique

Les spectres ATG des tissus modifiés ont été réalisés sur un appareil SETARAM série Setsys 2400 au laboratoire SPCTS de l'université de Limoges. Tous les spectres ont été obtenus pour une montée en température de 5 °C/min jusqu'à 500 °C sous balayage d'air, utilisant l'alumine calcinée comme référence inerte.

3-7- Microscopie électronique à balayage

Les échantillons de tissus modifiés ont été conditionnés en disque ayant un diamètre de 1 cm environ. Ils ont ensuite été lavés durant 24 heures dans l'acétone à reflux afin d'éliminer toutes impuretés et poussières puis séchés à 100 °C. Avant l'observation, les échantillons ont été métallisés à l'or-palladium (17 nm d'épaisseur ; SCD 050, BAL-TEC, Liechtenstein) puis collés sur le porte-objet à l'aide d'un film carbone autocollant. Les photographies MEB ont été enregistrées sur un appareil Philips XL30 au service de microscopie électronique de l'université de Limoges.

4- Détermination du taux de greffage en photosensibilisateur

Afin de pouvoir appliquer la loi de Beer-Lambert ($A = \epsilon.l.C$), des dilutions nécessaires pour obtenir une absorbance (correspondante à la bande de Soret) comprise entre 0,1 et 1 ont été effectuées.

Le taux de greffage en photosensibilisateur a été déterminé à partir de la solution de greffage par UV-Visible selon la formule suivante,

$$\text{taux de greffage (\%)} = \left[1 - \frac{A_{\text{Soret}} / \epsilon_{\text{Soret}} \times V \times d}{n_{\text{initial}}} \right] \times 100$$

Avec,

- A_{Soret} : absorbance de la longueur d'onde correspondante à la bande de Soret du photosensibilisateur libre non greffé,
- ϵ_{Soret} : coefficient d'absorption molaire correspondant à la bande de Soret du photosensibilisateur libre non greffé,
- V : volume de la solution analysée,
- d : facteur de dilution nécessaire pour la mesure en UV-Visible (absorbance comprise entre 0 et 1),
- n_{initial} : nombre de mole initial de photosensibilisateur.

5- Appareillage d'activation micro-ondes

Un réacteur monomode Synthewave 402[®] (Prolabo) d'une puissance maximale de 300 W a été utilisé. L'appareil est piloté par ordinateur et l'asservissement peut-être fait en température ou en puissance. La température est lue avec une sonde infrarouge placée sous l'échantillon.

6- Rendement quantique d'oxygène singulet (¹O₂)

Les mesures du rendement quantique en oxygène singulet des composés porphyriniques ont été réalisées au laboratoire DCRP (UMR 7630 CNRS-INPL) de l'université de Nancy. Les photosensibilisateurs étudiés ont été excités à l'aide d'une lampe Xénon à arc placée sur un spectrofluorimètre SPEX 1680 possédant un double monochromateur de 0,22 μm . La luminescence de l'oxygène singulet, suite à une excitation à 415 nm, a ensuite été mesurée à 1270 nm *via* un monochromateur PTI S/N 1565 grâce à un détecteur IR de la société North Coast Scientific (modèle EO-817L), refroidi à l'azote liquide. Les échantillons ont été dilués dans une goutte de chloroforme puis redilués dans l'éthanol ou directement dilué dans l'éthanol (selon la solubilité du produit) afin d'obtenir des solutions dont la densité optique au maximum d'absorption soit maintenue inférieure à $0,2 \pm 0,02$.

Les rendements quantiques d'oxygène singulet des photosensibilisateurs finaux ont été déterminés dans l'éthanol et/ou le chloroforme, en utilisant le rose de bengale ($\Phi = 0,68$ dans l'éthanol) comme référence,^[190]

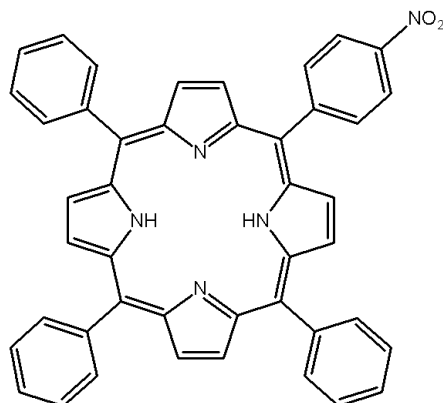
$$\Phi_{\Delta} = \Phi_{\Delta_{\text{ref}}} \times \left(\frac{A_{\text{ref}}}{A} \right) \times \left(\frac{I}{I_{\text{ref}}} \right)$$

Avec,

- Φ_{Δ} = rendement quantique de formation d'oxygène singulet, $^1\text{O}_2$ du composé étudié,
- $\Phi_{\Delta_{\text{ref}}}$ = rendement quantique de formation d' $^1\text{O}_2$ du rose de Bengale,
- A et A_{ref} = absorption à la longueur d'onde d'excitation (415 nm) du composé étudié et de la référence (rose de Bengale) respectivement,
- I et I_{ref} = intensité du pic de luminescence à 1270 nm du composé étudié et de la référence respectivement.

7- Synthèses

5-(4-nitrophenyl)-10,15,20-triphényl porphyrine (1)



Dans un bicol de 250 mL, 302 mg (2 mmol ; 1 éq.) de 4-nitrobenzaldéhyde et 0,613 mL (6 mmol ; 3 éq.) de benzaldéhyde sont mis en présence de 60 mL d'acide propionique. Après 1 heure de reflux à 120-130 °C, le pyrrole (0,555 mL ; 8 mmol ; 4 éq.) fraîchement distillé est additionné goutte à goutte. La réaction se poursuit 1 heure à 120 °C, sous agitation et à l'abri de la lumière. Après retour à température ambiante, le solvant est évaporé à la pompe à palette. Le brut obtenu subit une pré-purification sur large fritté 3 de silice (éluant : CHCl₃). Le composé **1** est obtenu, après purification sur plaques préparatives (CHCl₃/éther de pétrole : 6/4), sous l'aspect d'un solide violet avec un rendement de 7,2% (96 mg).

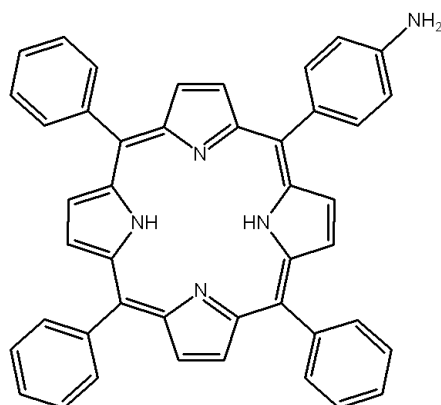
$R_f = 0,62$ (CHCl₃/éther de pétrole : 6/4).

UV-Visible (CHCl₃), λ_{max} en nm ($\epsilon \cdot 10^{-3}$) : 420 (241) ; 516 (12,2) ; 552 (7,1) ; 591 (4,4) ; 647 (3,1).

RMN ¹H (CDCl₃) : δ_{ppm} = 8,89 (d, J = 4,8 Hz, 2H, **H** _{β -pyrroliques}) ; 8,86 (s, 4H, **H** _{β -pyrroliques}) ; 8,73 (d, J = 4,8 Hz, 2H, **H** _{β -pyrroliques}) ; 8,62 (d, J = 8,5 Hz, 2H, **H**_{3,5-aryl}) ; 8,39 (d, J = 8,5 Hz, 2H, **H**_{2,6-aryl}) ; 8,21 (d, J = 6,8 Hz, 6H, **H**_{2,6-phényl}) ; 7,76 (d, J = 7,3 Hz, 9H, **H**_{3,4,5-phényl}) ; -2,78 (s, 2H, **NH**_{int.}).

SM (MALDI) : m/z = 660,07 [M+H]⁺.

5-(4-aminophényl)-10,15,20-triphényl porphyrine (2)



Dans un bicol de 100 mL, le composé **1** (80 mg ; 0,121 mmol ; 1éq.) est dissous dans 20 mL de CHCl_3 . 82 mg (0,363 mmol ; 3éq.) de chlorure d'étain, dissous dans 20 mL d' HCl à 37%, sont alors additionnés. Le milieu réactionnel est homogénéisé avec 20 mL d'acide acétique. La réaction est laissée une nuit à 70-80 °C, sous agitation et à l'abri de la lumière. Après retour à température ambiante, le milieu réactionnel est neutralisé par 150 mL d'une solution de NaOH à 2M. Après extraction de la phase organique, lavage à l'eau ultra-pure (2 x 100 mL), séchage sur MgSO_4 puis filtration, le composé **2** est obtenu sous l'aspect d'un solide violet avec un rendement de 80% (61 mg).

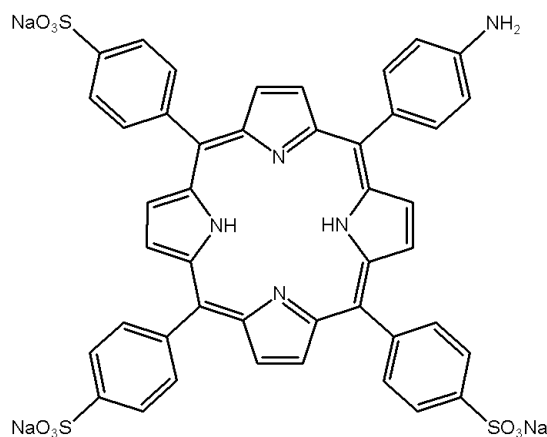
$R_f = 0,50$ (CHCl_3).

UV-Visible (CHCl_3), λ_{max} en nm ($\epsilon \cdot 10^{-3}$) : 421 (369) ; 517 (14,0) ; 554 (7,6) ; 591 (4,4) ; 648 (4,0).

RMN ^1H (CDCl_3) : $\delta_{\text{ppm}} = 8,94$ (d, $J = 4,7$ Hz, 2H, $\mathbf{H}_{\beta\text{-pyrroliques}}$) ; 8,84 (d, $J = 4,7$ Hz, 2H, $\mathbf{H}_{\beta\text{-pyrroliques}}$) ; 8,82 ($s_{\text{él.}}$, 4H, $\mathbf{H}_{\beta\text{-pyrroliques}}$) ; 8,21 (d, $J = 7,6$ Hz, 6H, $\mathbf{H}_{2,6\text{-phényl}}$) ; 7,74 (d, $J = 7,4$ Hz, 9H, $\mathbf{H}_{3,4,5\text{-phényl}}$) ; 7,99 (d, $J = 8,2$ Hz, 2H, $\mathbf{H}_{2,6\text{-aryl}}$) ; 7,04 (d, $J = 8,2$ Hz, 2H, $\mathbf{H}_{3,5\text{-aryl}}$) ; 3,99 (s, 2H, NH_2) ; -2,75 (s, 2H, $\text{NH}_{\text{int.}}$).

SM (MALDI) : $m/z = 630,11$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

5-(4-aminophényl)-10,15,20-tri(4-sulphonatophényl) porphyrine (3)



75 mg de **2** (0,119 mmol) sont traités avec 5 mL d'une solution d' H_2SO_4 , 95 % durant une nuit à 70-80 °C, sous agitation et à l'abri de la lumière. La solution est ensuite diluée dans 100 mL d'eau ultra pure puis neutralisée par une solution saturée de Na_2CO_3 jusqu'à obtenir un pH voisin de 7. Après évaporation, les sels de sodium sont précipités par un excès de MeOH (opération répétée 2 fois). L'élimination des sels non porphyriniques est réalisée à l'aide d'une simple filtration sur fritté de porosité 3. La solution est reprise dans un minimum d'eau avant la mise en dialyse (seuil de coupure = 1000 Da). Après 4 jours de dialyse et lyophilisation, le composé hydrosoluble **3** est obtenu sous l'aspect d'un solide marron-vert avec un rendement de 86 % (96 mg).

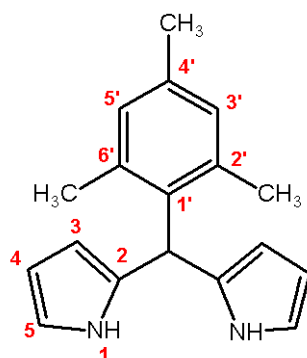
$R_f = 0,34$ ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$: 60/45/12).

UV-Visible (MeOH), λ_{max} en nm ($\epsilon \cdot 10^{-3}$) : 416 (354) ; 514 (16,6) ; 552 (10,1) ; 590 (5,8) ; 648 (4,8).

RMN ^1H (DMSO) : δ_{ppm} = 8,98 (d, $J = 4,5$ Hz, 2H, $\text{H}_{\beta\text{-pyrroliques}}$) ; 8,92 (d, $J = 4,5$ Hz, 2H, $\text{H}_{\beta\text{-pyrroliques}}$) ; 8,83 (s, 4H, $\text{H}_{\beta\text{-pyrroliques}}$) ; 8,20 (d, $J = 8$ Hz, 6H, $\text{H}_{3,5\text{-phényl}}$) ; 8,07 (d, $J = 8$ Hz, 6H, $\text{H}_{2,6\text{-phényl}}$) ; 7,89 (d, $J = 8,2$ Hz, 2H, $\text{H}_{2,6\text{-aryl}}$) ; 7,02 (d, $J = 8,2$ Hz, 2H, $\text{H}_{3,5\text{-aryl}}$) ; 5,61 (s, 2H, NH_2) ; -2,86 (s, 2H, $\text{NH}_{\text{int.}}$).

SM (MALDI) : $m/z = 936,09$ $[\text{M}+\text{H}]^+$; 1871,26 $[\text{M}_2+\text{H}]^+$.

Méso-(mésityl)-dipyrrométhane (4)



Dans un ballon de 100 mL, 3 mL de 2,4,6-triméthylbenzaldéhyde (20,4 mmol ; 1 éq.) sont mis en présence de 60 mL de pyrrole fraîchement distillé (0,87 mol ; 42 éq.). A cette solution, dégazée par barbotage d'argon durant 10 minutes, le TFA (0,315 mL ; 4,1 mmol ; 0,2 éq.) est ajouté. Le mélange est agité 30 minutes à température ambiante jusqu'à disparition totale de l'aldéhyde. Il est ensuite dilué dans 150 mL de dichlorométhane, neutralisé par une solution aqueuse de NaOH, 0,1M (30 mL), lavé à l'eau distillée (2 x 150 mL), séché sur MgSO₄ puis filtré. Après évaporation, le mélange est purifié par chromatographie sur colonne (toluène/triéthylamine : 99/1). Après recristallisation dans le cyclohexane, le composé **4** est obtenu sous forme de cristaux beiges avec un rendement de 36 % (1,95 g).

$R_f = 0,39$ (cyclohexane/AcOEt : 8/2 + 1% Et₃N).

$T_f = 167-168$ °C (litt. $T_f = 166-167$ °C).^[71]

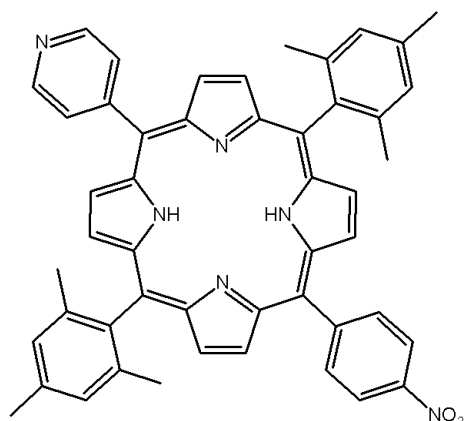
IR $\nu(\text{cm}^{-1})$, KBr : 3320 (N-H) ; 3100, 3070, 2850 (C-H).

RMN ¹H (CDCl₃) : $\delta_{\text{ppm}} = 7,92$ (s_{él.}, 2H, NH) ; 6,85 (s, 2H, **H**_{3',5'-mésityl}) ; 6,65 (d, J = 1,0 Hz, 2H, **H**₅) ; 6,16 (q, J = 2,8 Hz, 2H, **H**₄) ; 5,99 (m, 2H, **H**₃) ; 5,91 (s, 1H, **H**_{més}) ; 2,27 (s, 3H, **CH**_{3,p-mésityl}) ; 2,05 (s, 6H, **CH**_{3,o-mésityl}).

RMN ¹³C (CDCl₃) : $\delta_{\text{ppm}} = 137,8$ (**C**_{2',6'}) ; 136,8 (**C**_{4'}) ; 134,8 (**C**_{1'}) ; 131,4 (**C**₂) ; 130,5 (**C**_{3',5'}) ; 116,3 (**C**₅) ; 108,9 (**C**₄) ; 106,7 (**C**₃) ; 38,5 (**C**_{més}) ; 20,9 (**CH**_{3,p-mésityl}) ; 20,7 (**CH**_{3,o-mésityl}).

SM (MALDI) : $m/z = 263,03$ [M-H]⁺.

5,15-bis(mésityl)-10-(4-nitrophényl)-20-(4-pyridyl) porphyrine (5)



Dans un bicol de 500 mL, 172 mg de 4-nitrobenzaldéhyde (1,135 mmol ; 1 éq.) et 0,108 mL de pyridine-4-carbaldéhyde (1,135 mmol ; 1 éq.), en solution dans 1 mL de dichlorométhane anhydre, sont dissous dans 225 mL de dichlorométhane anhydre en présence de 600 mg de *méso*-(mésityl)-dipyrrométhane **4** (2,27 mmol ; 2 éq.). A cette solution, dégazée par barbotage d'argon durant 15 min, le TFA (0,315 mL ; 4,1 mmol ; 3,6 éq.) en solution dans 1 mL de dichlorométhane anhydre est ajouté goutte à goutte. Après 45 min de réaction sous argon, 560 mg de *p*-cloranil (2,27 mmol ; 1 éq.) sont ajoutés et le mélange réactionnel est laissé sous agitation pendant 90 minutes. Celui-ci est ensuite passé sur fritté de silice et lavé avec du chloroforme. Le mélange obtenu est ensuite purifié par chromatographie sur colonne (CHCl₃) puis sur plaques préparatives (CHCl₃/EtOH : 99/1). Le composé **5** est obtenu sous l'aspect d'un solide violet avec 18,2% de rendement (155 mg).

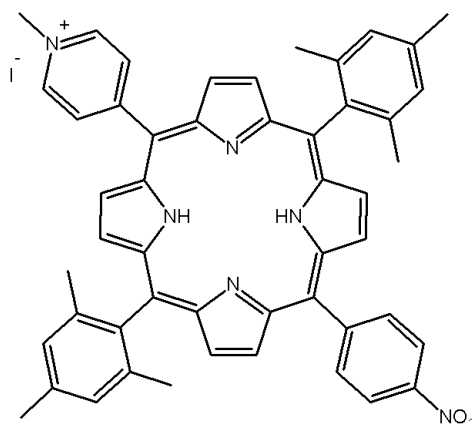
$R_f = 0,45$ (CHCl₃/EtOH : 98/2).

UV-Visible (CHCl₃), λ_{\max} en nm ($\epsilon \cdot 10^{-3}$) : 419 (363) ; 515 (18,6) ; 550 (7,6) ; 590 (5,6) ; 648 (3,9).

RMN ¹H (CDCl₃) : $\delta_{\text{ppm}} = 8,96$ (d, J = 5,1 Hz, 2H, **H**_{2,6-pyridyl}) ; 8,69 (d, J = 4,6 Hz, 2H, **H** _{β -pyrroliques}) ; 8,68 (s_{él.}, 4H, **H** _{β -pyrroliques}) ; 8,63 (d, J = 4,6 Hz, 2H, **H** _{β -pyrroliques}) ; 8,55 (d, J = 8,4 Hz, 2H, **H**_{3,5-aryl}) ; 8,33 (d, J = 8,4 Hz, 2H, **H**_{2,6-aryl}) ; 8,11 (d, J = 5,1 Hz, 2H, **H**_{3,5-pyridyl}) ; 7,18 (s, 4H, **H**_{mésityl}) ; 2,56 (s, 6H, **CH**_{3,*p*-mésityl}) ; 1,76 (s, 12H, **CH**_{3,*o*-mésityl}) ; -2,73 (s_{él.}, 2H, **NH**_{int.}).

SM (ESI) : m/z = 745,33 [M+H]⁺.

5,15-bis(mésityl)-10-(4-N-méthylpyridinium)-20-(4-nitrophényl) porphyrine (6)



Dans un ballon de 25 mL, 75 mg de **5** (0,1 mmol ; 1 éq.) sont dissous dans 10 mL de DMF anhydre. 0,062 mL d'iodométhane (1 mmol ; 10 éq.) sont alors ajoutés et la réaction est laissée durant 3 heures sous argon et à température ambiante. Après évaporation du DMF sous vide, précipitation dans l'éther diéthylique puis filtration, le composé **6** est obtenu sous l'aspect d'un solide violet avec un rendement de 94 % (83 mg).

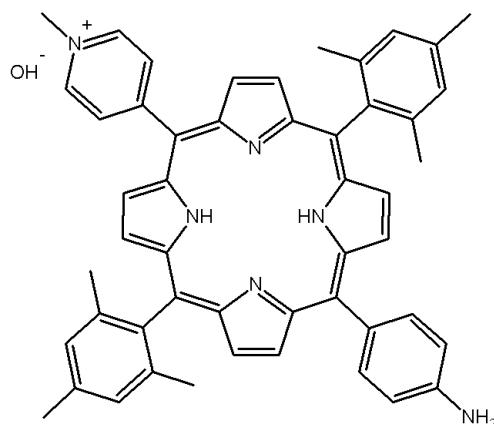
$R_f = 0,45$ (CHCl₃/MeOH : 9/1).

UV-Visible (CHCl₃), λ_{\max} en nm ($\epsilon \cdot 10^{-3}$) : 424 (158) ; 520 (14,2) ; 565 (11,7) ; 592 (6,7) ; 655 (7,1).

RMN ¹H (CDCl₃) : δ_{ppm} = 9,36 (d, J = 6,2 Hz, 2H, **H**_{2,6-pyridyl}) ; 8,87 (d, J = 4,1 Hz, 2H, **H** _{β -pyrroliques}) ; 8,78 (d, J = 4,8 Hz, 2H, **H** _{β -pyrroliques}) ; 8,73 (d, J = 6,2 Hz, 2H, **H**_{3,5-pyridyl}) ; 8,69 (d, J = 4,7 Hz, 2H, **H** _{β -pyrroliques}) ; 8,64 (d, J = 4,7 Hz, 2H, **H** _{β -pyrroliques}) ; 8,55 (d, J = 8,4 Hz, 2H, **H**_{3,5-aryl}) ; 8,31 (d, J = 8,4 Hz, 2H, **H**_{2,6-aryl}) ; 7,19 (s, 4H, **H**_{mésityl}) ; 4,88 (s, 3H, N⁺-CH₃) ; 2,56 (s, 6H, **CH**_{3,*p*-mésityl}) ; 1,74 (s, 12H, **CH**_{3,*o*-mésityl}) ; -2,69 (s_{él.}, 2H, **NH**_{int.}).

SM (MALDI) : m/z = 759,20 [M-I]⁺.

5-(4-aminophényl)-10,20-bis(mésityl)-15-(4-N-méthylpyridinium) porphyrine (7)



Dans un bicol de 100 mL, 71 mg de **6** (0,08 mmol ; 1 éq.) sont dissous dans 10 mL de CHCl_3 . 54 mg (0,24 mmol ; 3 éq.) de chlorure d'étain, dissous dans 10 mL d'HCl à 37%, sont alors additionnés. Le milieu est homogénéisé avec 10 mL d'acide acétique. La réaction est laissée une nuit à 70-80 °C, sous agitation et à l'abri de la lumière. Après retour à température ambiante, le milieu réactionnel est neutralisé par 100 mL d'une solution de NaOH à 1M. Après lavage à l'eau distillée (2 x 100 mL), séchage sur MgSO_4 puis filtration, le composé **7** est obtenu sous l'aspect d'un solide violet avec un rendement de 90 % (54 mg).

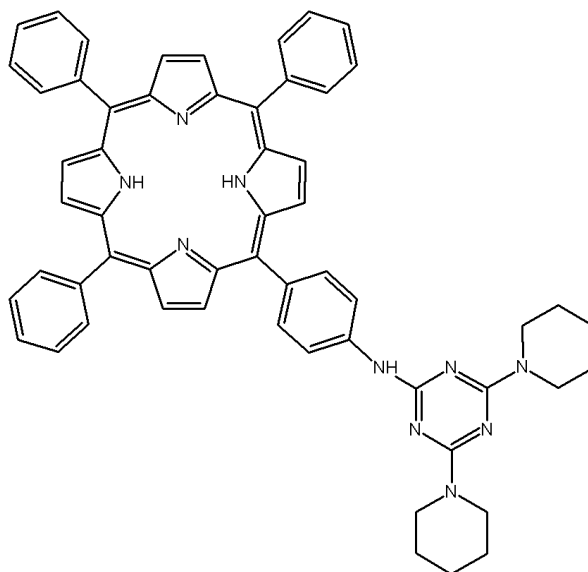
$R_f = 0,43$ ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH} : 8/2$).

UV-Visible (CHCl_3), λ_{max} en nm ($\epsilon \cdot 10^{-3}$) : 424 (76) ; 523 (14) ; 572 (7,2) ; 595 (5,4) ; 656 (4,7).

RMN ^1H (CDCl_3) : $\delta_{\text{ppm}} = 9,67$ (sél., 2H, $\text{H}_{2,6\text{-pyridyl}}$) ; 8,84 (d, $J = 4,7$ Hz, 2H, $\text{H}_{\beta\text{-pyrroliques}}$) ; 8,73 (d, $J = 6,2$ Hz, 2H, $\text{H}_{3,5\text{-pyridyl}}$) ; 8,68 (s, 4H, $\text{H}_{\beta\text{-pyrroliques}}$) ; 8,61 (d, $J = 4,7$ Hz, 2H, $\text{H}_{\beta\text{-pyrroliques}}$) ; 7,91 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H, $\text{H}_{2,6\text{-aryl}}$) ; 7,18 (s, 4H, $\text{H}_{\text{mésityl}}$) ; 6,99 (d, $J = 8,2$ Hz, 2H, $\text{H}_{3,5\text{-aryl}}$) ; 5,03 (s, 3H, $\text{N}^+\text{-CH}_3$) ; 2,54 (s, 6H, $\text{CH}_{3,p\text{-mésityl}}$) ; 1,73 (s, 12H, $\text{CH}_{3,o\text{-mésityl}}$) ; -2,58 (sél., 2H, $\text{NH}_{\text{int.}}$).

SM (MALDI) : $m/z = 729,20$ $[\text{M-OH}]^+$.

5-[4-((4,6-bis)pipéridyl)-1,3,5-triazinyl]-aminophényl]-10,15,20-triphényl porphyrine (8)



Dans un ballon de 50 mL, le composé **2** (35 mg ; 0,056 mmol ; 1 éq.), l'ATC (10,3 mg ; 0,056 mmol ; 1 éq.) et la DIPEA (0,012 mL ; 0,067 mmol ; 1,2 éq.) sont mis en présence de 5 mL de THF puis placés à 0 °C (contrôle CCM : éther de pétrole/AcOEt, 2/1). Après 15 minutes de réaction, le mélange réactionnel est laissé revenir à température ambiante puis 0,028 mL (280 mmol ; 5 éq.) de pipéridine et 1,2 éq. de DIPEA sont introduits. Après 24 heures de réaction à reflux et évaporation du THF, le composé **8** est purifié par chromatographie sur plaques préparatives (éther de pétrole/AcOEt : 8/2). Le composé **8** est alors obtenu sous l'aspect d'un solide violet avec un rendement de 78% (39 mg).

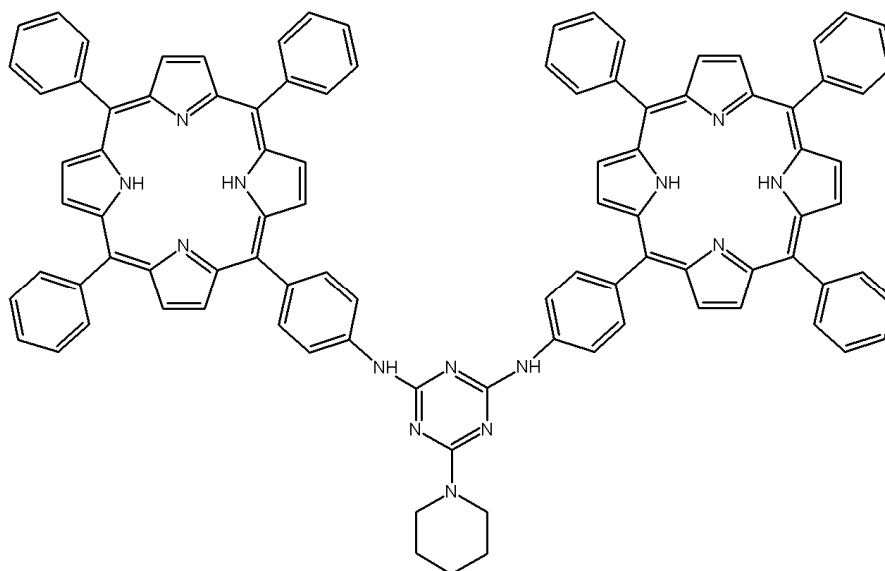
$R_f = 0,46$ (éther de pétrole/AcOEt : 8/2).

UV-Visible (CHCl_3), λ_{max} en nm ($\epsilon \cdot 10^{-3}$) : 420 (723) ; 516 (18,4) ; 552 (11,8) ; 591 (6,1) ; 647 (4,6).

RMN ^1H (CDCl_3) : $\delta_{\text{ppm}} = 8,95$ (d, $J = 4,7$ Hz, 2H, $\mathbf{H}_{\beta\text{-pyrroliques}}$) ; 8,85 (d, $J = 5,1$ Hz, 2H, $\mathbf{H}_{\beta\text{-pyrroliques}}$) ; 8,83 (s, 4H, $\mathbf{H}_{\beta\text{-pyrroliques}}$) ; 8,21 (d, $J = 7,0$ Hz, 6H, $\mathbf{H}_{2,6\text{-phényl}}$) ; 7,76 (m, 9H, $\mathbf{H}_{3,4,5\text{-phényl}}$) ; 8,14 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H, $\mathbf{H}_{3,5\text{-aryl}}$) ; 8,0 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H, $\mathbf{H}_{2,6\text{-aryl}}$) ; 7,07 (sél., 1H, NH) ; 3,94 (s, 8H, $\mathbf{H}_{\alpha\text{-pipéridyl}}$) ; 1,66 (s, 12H, $\mathbf{H}_{\beta,\gamma\text{-pipéridyl}}$) ; -2,75 (s, 2H, $\mathbf{NH}_{\text{int.}}$).

SM (MALDI) : $m/z = 875,14$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

5-[4-(4-(5-(4-aminophényl)-10,15,20-triphényl porphyrine)-6-pipéridyl-1,3,5-triazinyl
aminophényl]-10,15,20-triphényl porphyrine (9)



Dans un ballon de 25 mL, 30 mg de **2** (0,048 mmol ; 1 éq.), 9 mg d'ATC (0,048 mmol ; 1 éq.) et 9 μ L de DIPEA (0,057 mmol ; 1,2 éq.) sont mis en présence de 10 mL de THF puis placés à 0 °C. Après 15 minutes de réaction, un 2^e équivalent de **2** est alors ajouté (30 mg ; 0,048 mmol ; 1 éq.) en présence de 9 μ L (0,057 mmol ; 1,2 éq.) de DIPEA. Après 4 jours de réaction à température ambiante, sous agitation et à l'abri de la lumière, la pipéridine (0,047 mL ; 0,240 mmol ; 5 éq.) et 1,2 éq. de DIPEA sont introduits. La réaction est laissée 3 heures à reflux. Après purification sur plaques préparatives (éther de pétrole/AcOEt : 2/1), le composé **9** est obtenu sous l'aspect d'un solide violet avec un rendement de 72 % (48 mg).

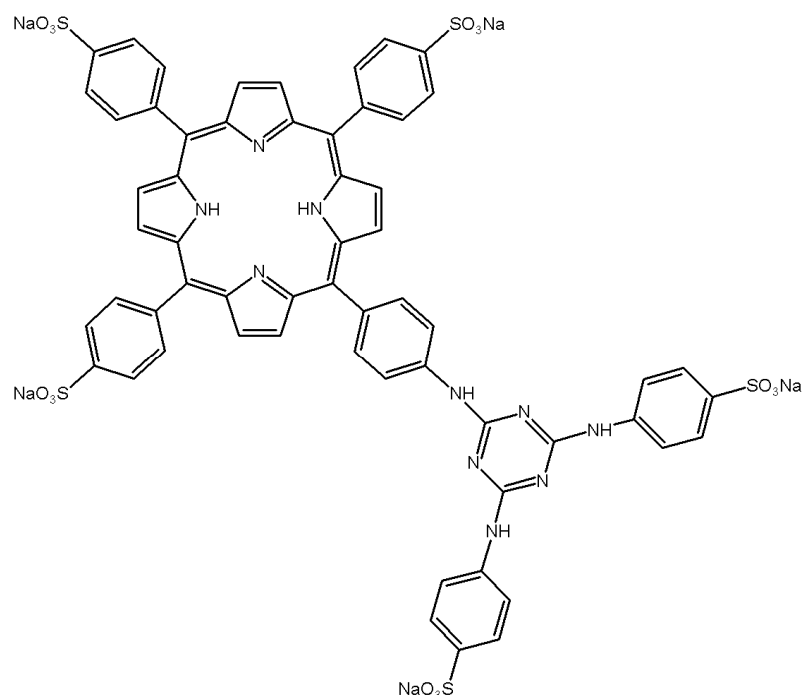
R_f = 0,61 (éther de pétrole/AcOEt : 2/1).

UV-Visible (CHCl₃), λ_{\max} en nm ($\epsilon \cdot 10^{-3}$) : 421 (1047) ; 517 (46,3) ; 553 (29,3) ; 591 (15,5) ; 647 (12,5).

RMN ¹H (CDCl₃) : δ_{ppm} = 8,96 (d, J = 4,7 Hz, 4H, **H** _{β -pyrroliques) ; 8,94 (d, J = 4,8 Hz, 2H, **H** _{β -pyrroliques) ; 8,83 (d, J = 4,8 Hz, 2H, **H** _{β -pyrroliques) ; 8,82 (s, 8H, **H** _{β -pyrroliques) ; 8,21 (d, J = 8,4 Hz, 4H, **H**_{3,5-aryl}) ; 8,20 (m, 12H, **H**_{2,6-phényl}) ; 8,08 (d, J = 8,4 Hz, 4H, **H**_{2,6-aryl}) ; 7,73 (m, 18H, **H**_{3,4,5-phényl}) ; 7,4 (s_{él.}, 2H, **NH**) ; 3,98 (s, 4H, **H** _{α -pipéridyl}) ; 1,73 (s, 6H, **H** _{β , γ -pipéridyl}) ; -2,75 (s, 4H, **NH**_{int.}).}}}}

SM (MALDI) : m/z = 1419,22 [M+H]⁺.

5-[4-((4,6-bis(sulphanilatyl)-1,3,5-triazinyl)-aminophényl)-10,15,20-tri(4-sulphonatophényl) porphyrine (10)



Dans un ballon de 50 mL, 30 mg de **3** (0,032 mmol ; 1 éq.) solubilisés dans 10 mL d'eau sont mis en présence de 7,1 mg (0,038 mmol ; 1,2 éq.) d'ATC (solubilisés dans 1 mL de THF) et de 2 mL d'une solution saturée de NaHCO₃ (contrôle CCM : CHCl₃/MeOH/H₂O, 6/4/1). Après 30 minutes de réaction à 0 °C, 55 mg (0,32 mmol ; 10 éq.) d'acide sulfanilique en solution dans 5 mL d'une solution saturée de NaHCO₃ sont ajoutés et le milieu est mis à chauffer à reflux durant 24 heures. Après retour à température ambiante, la solution est dialysée (seuil de coupure = 1000 Da) pendant 48 heures. Après lyophilisation, le composé **10** est obtenu sous l'aspect d'un solide rouge avec un rendement de 90 % (40,4 mg).

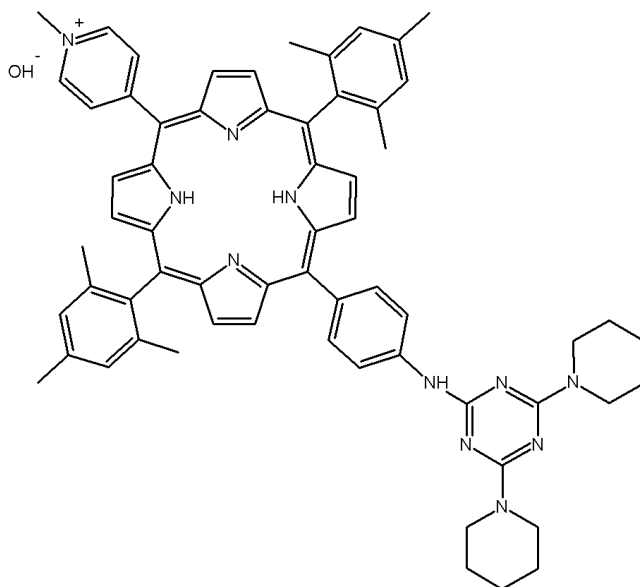
$R_f = 0,19$ (CHCl₃/MeOH/H₂O : 6/4/1).

UV-Visible (MeOH), λ_{\max} en nm ($\epsilon \cdot 10^{-3}$) : 415 (254) ; 519 (10,4) ; 557 (7,0) ; 586 (4,8) ; 641 (3,4).

RMN ¹H (DMSO) : $\delta_{\text{ppm}} = 8,93$ (s, 2H, **H** _{β -pyrroliques}) ; 8,86 (s, 6H, **H** _{β -pyrroliques}) ; 8,22 (d, J = 7,9 Hz, 6H, **H**_{2,6-phényl}) ; 8,22 (m, 8H, **H**_{sulfanyl}) ; 8,07 (d, J = 7,9 Hz, 6H, **H**_{3,5-phényl}) ; 7,85 (m, 6H, **H**_{3,5-aryl}) ; 7,60 (m, 6H, **H**_{2,6-aryl}) ; - 2,89 (s, 2H, **NH**_{int.}).

SM (MALDI) : m/z = 1401,09 [M+H]⁺.

5-[4-((4,6-bis(pipéridyl)-1,3,5-triazinyl)-aminophényl)-10,20-bis(mésityl)-15-(4-N-méthylpyridinium porphyrine (11)



43 mg de **7** (0,058 mmol ; 1 éq.) sont dissous dans 10 mL de THF auquel sont ajoutés à 0 °C, 11 mg d'ATC (0,058 mmol ; 1 éq.) et 0,012 mL (0,07 mmol ; 1,2 éq.) de DIPEA (contrôle CCM : CHCl₃/MeOH, 9/1). Après 30 minutes, la réaction est laissée à température ambiante durant 15 minutes. 0,057 mL de pipéridine (0,580 mmol ; 10 éq.) et 1,2 éq. de DIPEA (0,012 mL ; 0,07 mmol) sont alors introduits et la réaction se poursuit à reflux durant 24 heures sous agitation et à l'abri de la lumière. Après purification sur plaques préparatives (CHCl₃/MeOH : 9/1), le composé **11** est obtenu sous l'aspect d'un solide violet avec un rendement de 52 % (30 mg).

$R_f = 0,34$ (CHCl₃/MeOH : 9/1).

UV-Visible (CHCl₃), λ_{\max} en nm ($\epsilon \cdot 10^{-3}$) : 423 (146) ; 521 (12,7) ; 567 (11) ; 592 (8,2) ; 654 (6,6).

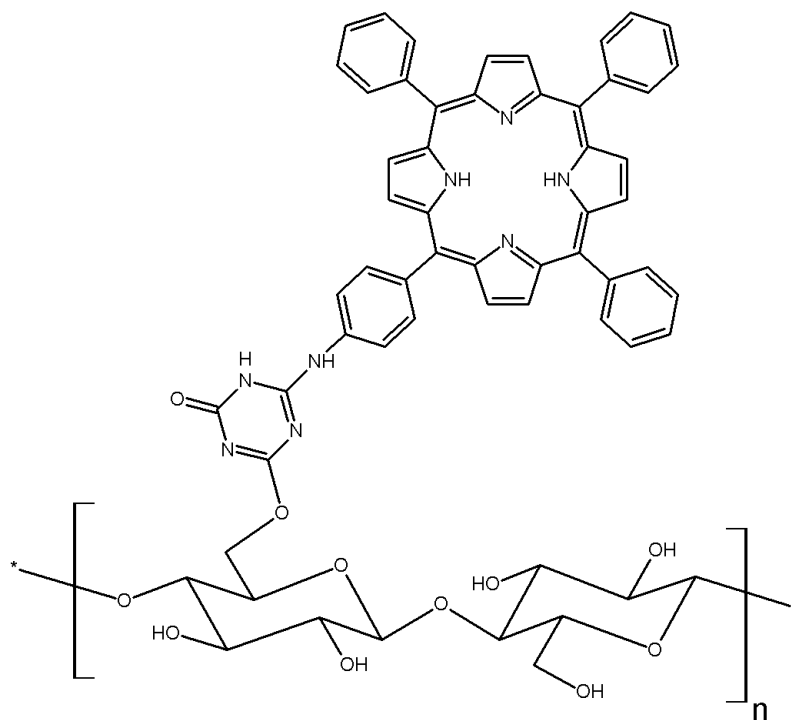
RMN ¹H (CDCl₃) : $\delta_{\text{ppm}} = 9,73$ (s_{él.}, 2H, **H**_{2,6-pyridyl}) ; 8,85 (d, J = 4,6 Hz, 2H, **H** _{β} -pyrroliques) ; 8,73 (s, 2H, **H**_{3,5-pyridyl}) ; 8,67 (s_{él.}, 4H, **H** _{β} -pyrroliques) ; 8,62 (d, J = 4,6 Hz, 2H, **H** _{β} -pyrroliques) ; 8,05 (d, J = 8,2 Hz, 2H, **H**_{3,5-aryl}) ; 7,93 (d, J = 8,2 Hz, 2H, **H**_{2,6-aryl}) ; 7,20 (s, 4H, **H**_{mésityl}) ; 5,05 (s, 3H, N⁺-CH₃) ; 3,76 (s, 8H, **H** _{α} -pipéridyl) ; 2,54 (s, 6H, CH_{3,p-mésityl}) ; 1,73 (s, 12H, CH_{3,o-mésityl}) ; 1,57 (s, 12H, **H** _{β,γ} -pipéridyl) ; -2,60 (s_{él.}, 2H, NH_{int.}).

SM (ESI) : m/z = 974,67 [M-OH]⁺.

Procédure générale d'élaboration des tissus triazinyl porphyriniques

Le composé porphyrinique **2**, **3** ou **7** (1 éq.) est mis en présence d'ATC (1,2 éq.) et de DIPEA (1,2 éq.) dans 60 mL de THF (**2** et **7**) ou de solution saturée de NaHCO₃ (1,2 éq.) dans 60 mL d'eau (**3**). Après 15 minutes (**2** et **7**) ou 30 minutes (**3**) à 0 °C, le milieu réactionnel est laissé 15 minutes à température ambiante. Le tissu cellulosique (6 morceaux de 3,5 x 3,5 cm), préalablement traité avec 50 mL d'une solution de NaOH 0,5 M durant 24 heures, et 1,2 éq. de DIPEA ou NaHCO₃ sont ensuite introduits. La réaction de greffage est alors maintenue à reflux dans le THF (**2** et **7**) ou dans l'eau (**3**) durant 24 heures sous agitation magnétique et à l'abri de la lumière. Les tissus sont ensuite rincés (3 x 100 mL) dans le THF et CHCl₃ (**2** et **7**) ou dans l'eau (**3**). Après lavage dans du DMF (100 mL) à reflux pendant 24 heures suivi d'un séchage à 100 °C, les tissus triazinyl porphyriniques sont obtenus.

Tissu triazinyl *méso*-arylporphyrinique neutre (12)

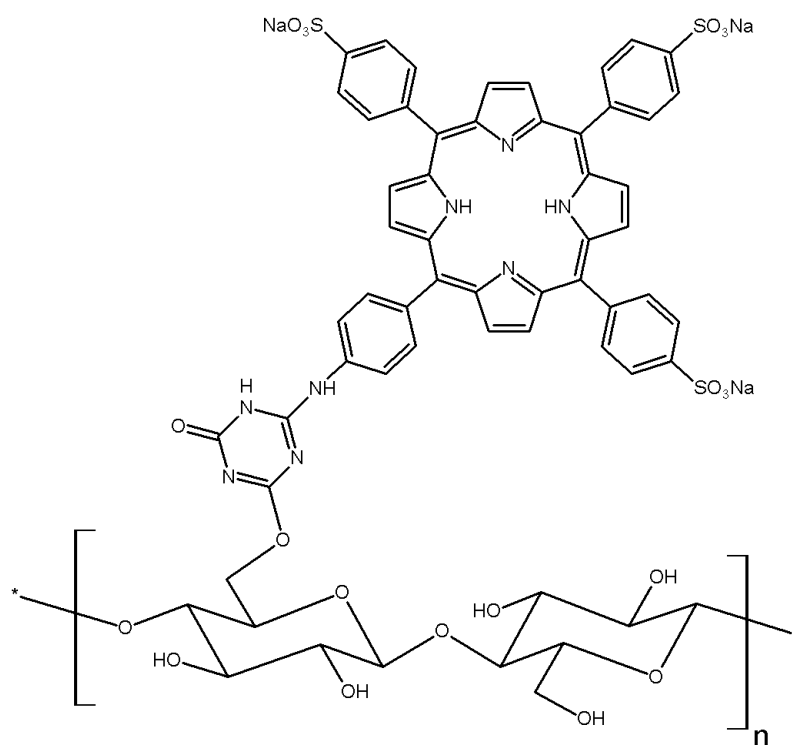


A partir de **2** (65,2 mg ; 0,104 mmol ; 1 éq.), de 23 mg d'ATC (0,125 mmol ; 1,2 éq.) et de 0,022 mL de DIPEA (0,125 mmol ; 1,2 éq.), le tissu neutre **12** est obtenu avec un taux de greffage de 57% (molaire).

ATR-FTIR, ν (cm^{-1}) : 1726, 1660 (amide cycle triazine); 880, 840 (C=C macrocycle aromatique).

DRUV, λ_{max} en nm : 422 ; 518 ; 555 ; 594 ; 649.

Tissu triazinyl *méso*-arylporphyrinique anionique (13)

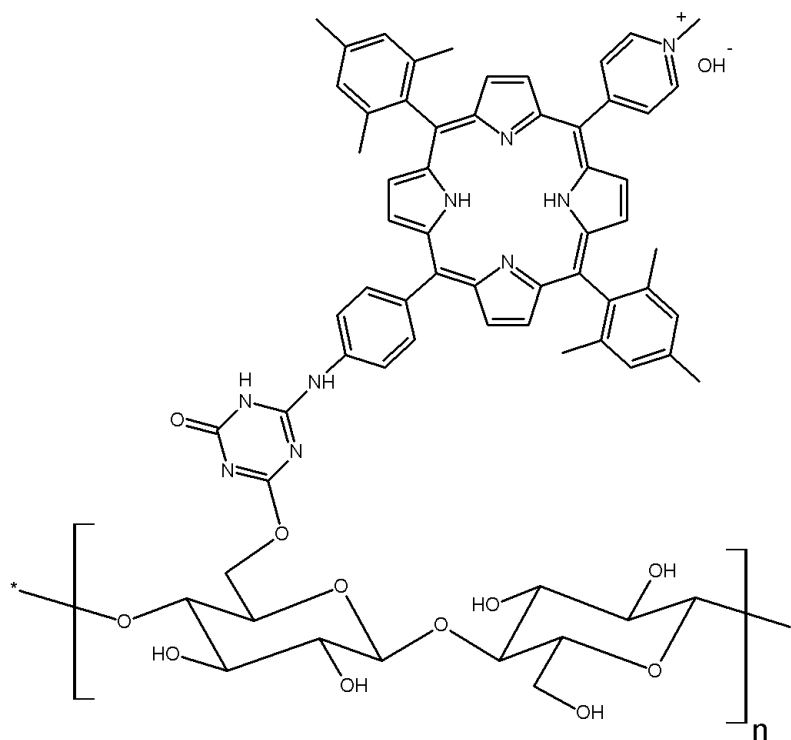


A partir de **3** (62,5 mg ; 0,067 mmol ; 1 éq.), de 14,8 mg d'ATC (0,0804 mmol ; 1,2 éq.) et de 1 mL d'une solution saturée de NaHCO₃, le tissu anionique **13** est obtenu avec un taux de greffage de 73% (molaire).

ATR-FTIR, ν (cm⁻¹) : 1730, 1655 (amide cycle triazine); 880, 840 (C=C macrocycle aromatique).

DRUV, λ_{max} en nm : 425 ; 521 ; 559 ; 594 ; 650.

Tissu triazinyl *méso*-arylporphyrinique cationique (14)

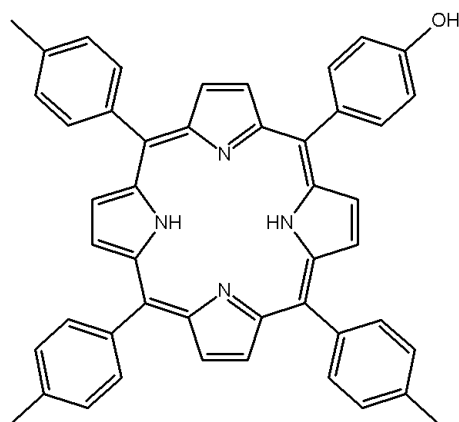


A partir de **7** (62 mg ; 0,083 mmol ; 1 éq.), de 18,4 mg d'ATC (0,1 mmol ; 1,2 éq.) et de 0,0174 mL de DIPEA (0,1 mmol ; 1,2 éq.), le tissu cationique **14** est obtenu avec un taux de greffage de 54% (molaire).

ATR-FTIR, ν (cm⁻¹) : 1636, 1562 (amide cycle triazine), 1352 (iminium), 805 (C=C macrocycle aromatique).

DRUV, λ_{max} en nm : 425 ; 520 ; 557 ; 595 ; 655.

5-(4-hydroxyphényl)-10,15,20-tritolyl porphyrine (15)



Dans un bicol surmonté d'un réfrigérant et d'une garde à chlorure de calcium, on dissout, selon les conditions stoechiométriques retenues, dans 300 mL d'acide propionique, le 4-hydroxybenzaldéhyde (3,4 g ; 28 mmol ; 1 éq.) et le *para*-tolualdéhyde (10,1 mL ; 85 mmol ; 3 éq.). Le mélange est alors porté à 120°C puis maintenu sous agitation à cette température pendant 45 minutes. Le pyrrole (8,0 mL ; 114 mmol ; 4 éq.) fraîchement distillé est ensuite introduit goutte à goutte. La réaction se poursuit pendant 90 minutes à l'abri de la lumière. Les tritolylporphyrines cristallisent dans le milieu réactionnel après 18 heures à 4°C. Après filtration et lavage à l'éthanol, les porphyrines sont purifiées par chromatographie sur colonne de silice (CHCl₃/éther de pétrole : 8/2). Le composé **15** est alors obtenu sous l'aspect d'un solide violet avec un rendement de 8% (1,51 g).

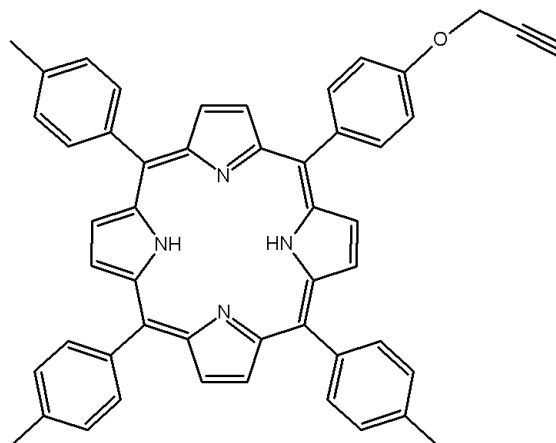
$R_f = 0,51$ (toluène/acétone : 93/7).

UV-Visible (CHCl₃), λ_{\max} en nm ($\epsilon \cdot 10^{-3}$) : 418 (363) ; 516 (13,5) ; 552 (7,4) ; 592 (4,0) ; 648 (4,3).

RMN ¹H (CDCl₃) : $\delta_{\text{ppm}} = 8,93$ (d, J = 4,4 Hz, 2H, **H_β-pyrroliques**) ; 8,84 (d, J = 4,4 Hz, 2H, **H_β-pyrroliques**) ; 8,83 (s_{él.}, 4H, **H_β-pyrroliques**) ; 8,08 (d, J = 7,7 Hz, 6H, **H_{2,6}-tolyl**) ; 8,03 (d, J = 8,2 Hz, 2H, **H_{2,6}-aryl**) ; 7,53 (d, J = 7,7 Hz, 6H, **H_{3,5}-tolyl**) ; 7,15 (d, J = 8,2 Hz, 2H, **H_{3,5}-aryl**) ; 2,69 (s, 9H, **CH₃tolyl**) ; -2,76 (s_{él.}, 2H, **NH_{int.}**).

SM (MALDI) : m/z = 673,60 [M+H]⁺.

5-(4-propargyloxyphényl)-10,15,20-tritolyl porphyrine (16)



Dans un ballon de 100 mL surmonté d'une garde à CaCl_2 , le composé **15** (450 mg ; 0,67 mmol) est dissous dans 30 mL de DMF anhydre auquel 463 mg de K_2CO_3 anhydre (0,85 mmol ; 5 éq.) sont ajoutés. 0,240 mL de bromure de propargyle (2,68 mmol ; 5 éq.) sont ensuite introduits avec précaution, sous argon. Après 18 heures de réaction à température ambiante et à l'abri de la lumière, un excès d'eau est ajouté (200 mL) puis le précipité obtenu est filtré. Après extraction dans le CHCl_3 , lavage à l'eau (2 x 100 mL), séchage sur MgSO_4 et filtration, l'éther propargylique est purifié par chromatographie sur colonne (CHCl_3 /éther de pétrole : 8/2). Le composé **16** est obtenu sous l'aspect d'un solide violet avec un rendement quantitatif (479 mg). Activation micro-ondes : Le mode opératoire est quasi identique mais ne nécessite pas de condition anhydre. A partir de 50 mg de **15**, après 2 min à 150 W (100 °C), le composé **16** est également obtenu avec un rendement quantitatif (58,3 mg).

$R_f = 0,78$ (CHCl_3).

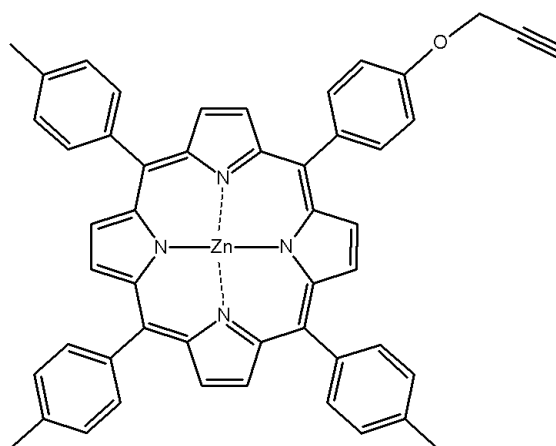
UV-Visible (CHCl_3), λ_{max} en nm ($\epsilon \cdot 10^{-3}$) : 427 (380,2) ; 526 (14,7) ; 562 (8,2) ; 603 (4,6) ; 659 (5,3).

IR $\nu(\text{cm}^{-1})$, KBr : 2118 ($-\text{C}\equiv\text{C}-$); 3283 ($\equiv\text{C}-\text{H}$).

RMN ^1H (CDCl_3) : δ_{ppm} = 8,85 (s, 8H, $\mathbf{H}_{\beta\text{-pyrroliques}}$) ; 8,13 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz, $\mathbf{H}_{2,6\text{-aryl}}$) ; 8,08 (d, 6H, $J = 7,8$ Hz, $\mathbf{H}_{2,6\text{-tolyl}}$) ; 7,54 (d, 6H, $J = 7,8$ Hz, $\mathbf{H}_{3,5\text{-tolyl}}$) ; 7,34 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz, $\mathbf{H}_{3,5\text{-aryl}}$) ; 4,96 (d, 2H, $J = 2,4$ Hz, $\mathbf{CH}_{2\text{propargyl}}$) ; 2,69 (s, 9H, $\mathbf{CH}_{3\text{tolyl}}$) ; 2,68 (t, 1H, $J = 2,4$ Hz, $\mathbf{H}_{\text{acétylénique}}$) ; -2,77 (s_{él.}, 2H, $\mathbf{NH}_{\text{int.}}$).

SM (MALDI) : $m/z = 711,32$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

5-(4-propargyloxyphényl)-10,15,20-tritolyl porphyrinato zinc (17)



Dans un ballon de 100 mL, le composé **16** (100 mg ; 0,141 mmol ; 1 éq.) est dissous dans 25 mL de THF auquel 125 mg d'acétate de zinc (0,681 mmol ; 5 éq.) sont ajoutés. Après 2 heures de réaction à reflux (70 °C) sous agitation magnétique et à l'abri de la lumière, le THF est évaporé. Le produit est ensuite repris dans du CHCl₃ (20 mL), lavé à l'eau (2 x 20 mL), séché sur MgSO₄ puis filtré. Après évaporation, le composé **17** est obtenu sous l'aspect d'un solide violet avec un rendement quantitatif (117 mg).

R_f = 0,77 (CHCl₃).

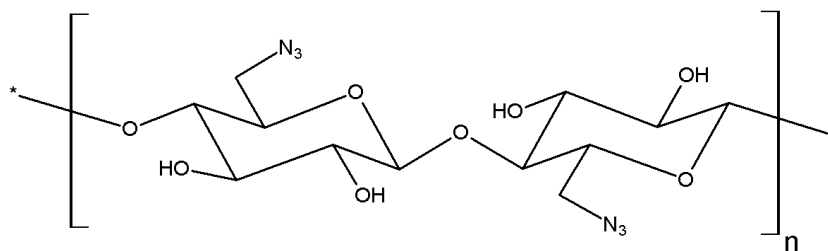
UV-Visible (CHCl₃), λ_{max} en nm (ε.10⁻³) : 425 (460) ; 554 (15,6) ; 596 (6,2).

IR ν(cm⁻¹), KBr : 2120 (-C≡C-); 3281 (≡C-H).

*RMN*¹*H* (CDCl₃) : δ_{ppm} = 8,96 (s, 8H, **H**_{β-pyrroliques}) ; 8,13 (d, 2H, J = 8,5 Hz, **H**_{2,6-aryl}) ; 8,10 (d, 6H, J = 7,8 Hz, **H**_{2,6-tolyl}) ; 7,55 (d, 6H, J = 7,8 Hz, **H**_{3,5-tolyl}) ; 7,34 (d, 2H, J = 8,5 Hz, **H**_{3,5-aryl}) ; 4,96 (d, 2H, J = 2,4 Hz, **CH**_{2propargyl}) ; 2,70 (s, 9H, **CH**_{3tolyl}) ; 2,68 (t, 1H, J = 2,4 Hz, **H**_{acétylénique}).

SM (ESI) : m/z = 773,23 [M+H]⁺.

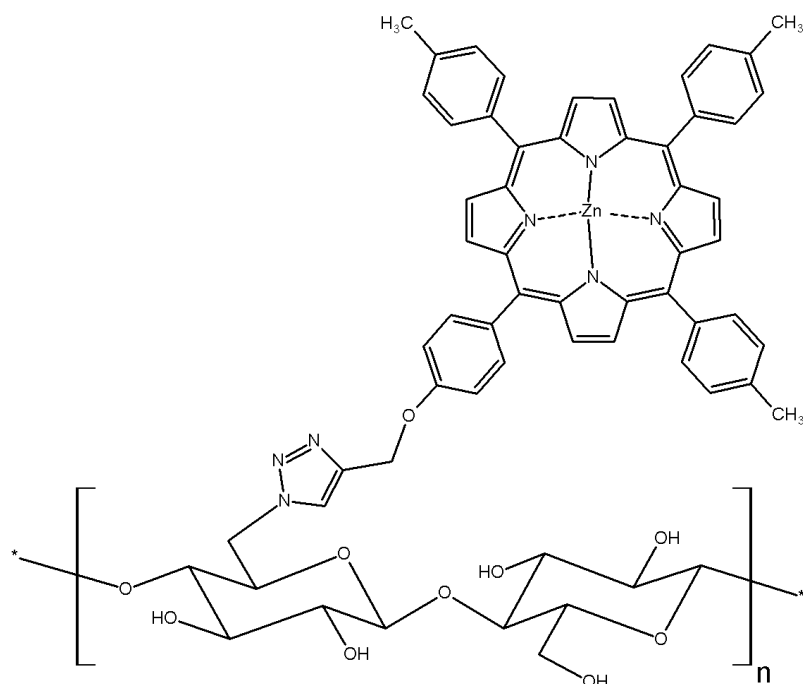
Tissu azidé (18)



1,3 g de tissu cellulosique (6 morceaux de 3,5 x 3,5 cm) sont introduits dans une solution de PPh₃ (5,2 g ; 4 éq. en masse) dans le DMF (30 mL). Après 3 heures à température ambiante et sous agitation magnétique, une solution de CBr₄ (7 g ; 5 éq. en masse) dans le DMF (10 mL) est ajouté puis la réaction est maintenue à 60 °C. Après 24 heures de réaction, une solution de NaN₃ (7 g ; 5 éq. en masse) dans le DMF (30 mL) est additionnée. Après 36 heures de réaction à 80 °C sous agitation magnétique, le tissu est sorti du milieu réactionnel, rincé au DMF, à l'eau puis à l'éthanol. Après lavage dans le DMF à reflux pendant 24 heures puis séchage à 100 °C, le tissu **19** est obtenu.

ATR-FTIR, ν (cm⁻¹) : 2110 (N₃).

Tissu triazolyl *méso*-aryltritoyl porphyrinique (19)

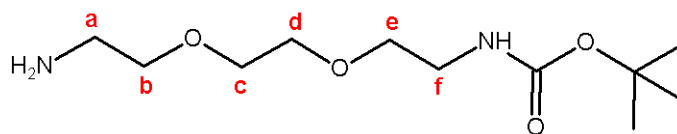


A une solution de **17** (60 mg ; 0,09 mmol ; 1 éq.) dans 60 mL de THF, on introduit le tissu **18** (6 morceaux de 3,5 x 3,5 cm). 30 mg (0,18 mmol ; 2 éq./**17**) d'acétate de cuivre et 30 mg (0,18 mmol ; 2 éq./**17**) d'ascorbate de sodium, solubilisés dans un minimum d'eau, sont ensuite additionnés. Après 24 heures de réaction à température ambiante sous agitation et à l'abri de la lumière, le tissu est sorti du milieu réactionnel avant d'être rincé au THF (3 x 100 mL) et au CHCl₃ (3 x 100 mL). Après lavage dans le DMF (100 mL) à reflux (120 °C) durant 24 heures et séchage à 100 °C, le tissu **19** est obtenu avec un taux de greffage de 70% (molaire).

ATR-FTIR, ν (cm⁻¹) : 1655 (cycle triazole).

DRUV, λ_{max} en nm : 430 ; 558 ; 600.

Tert-butyl-N-(2-[2-(2-aminoéthoxy)éthoxy]éthyl)-carbamate (20)



Sous argon, la 2,2'-(éthylènedioxy)-bis-(éthylamine) (7,34 mL ; 50 mmol ; 1 éq.) est additionnée à du CH₂Cl₂ anhydre fraîchement distillé (50 mL). Le Boc₂O (1,09 g ; 5 mmol ; 0,1 éq.), préalablement dilué dans du CH₂Cl₂ anhydre, est additionné goutte à goutte à la solution à l'aide d'une ampoule à brome. Après 48 heures de réaction à température ambiante, le solvant est évaporé sous pression réduite. L'huile jaune obtenue est solubilisée dans 50 mL de CH₂Cl₂. La phase organique est lavée avec une solution aqueuse de NaCl saturé (2 x 25 mL) puis à l'eau (2 x 25 mL) et séchée sur MgSO₄. Après filtration, une purification par chromatographie sur colonne est effectuée avec une élution par gradient (CHCl₃ jusqu'à CHCl₃/EtOH : 7/3 + 2% NH₄OH). Le composé **20**, sous l'aspect d'une huile jaune, est obtenu avec un rendement de 84% (1,04 g).

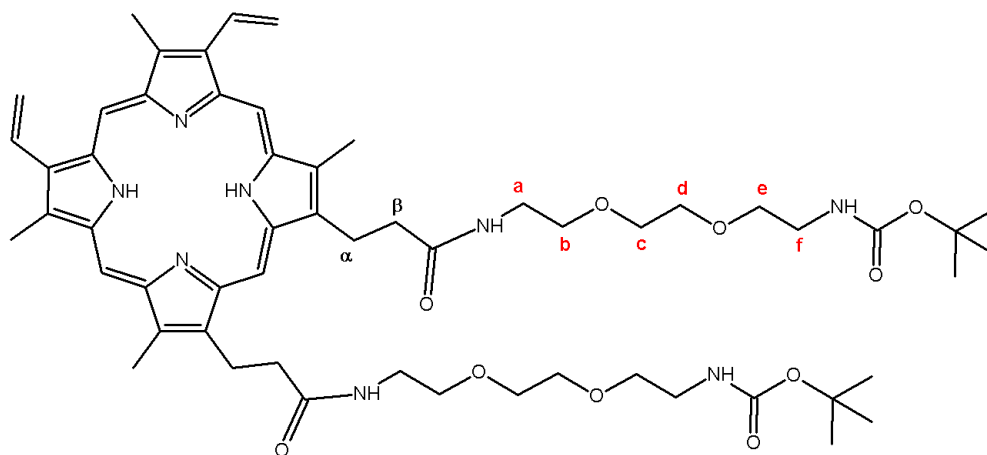
$R_f = 0,51$ (AcOEt/acétone/H₂O/NH₄OH : 5/3/1/1).

RMN ¹H (CDCl₃) : $\delta_{\text{ppm}} = 5,16$ (s_{él.}, 1H, NH) ; 3,62 (s, 4H, H_{c,d}) ; 3,55 (m, 4H, H_{b,e}) ; 3,32 (m, 2H, H_f) ; 2,90 (t, J = 4,9 Hz, 2H, H_a) ; 2,12 (s_{él.}, 2H, NH₂) ; 1,44 (s, 9H, CH₃boc).

RMN ¹³C (CDCl₃) : $\delta_{\text{ppm}} = 156,2$ (C=O) ; 79,4 (C_{IV}) ; 73,2 (CH₂ glycol) ; 70,4 (3 x CH₂ glycol) ; 41,8 (C_a) ; 40,6 (C_f) ; 28,6 (CH₃boc).

SM (ESI) : m/z = 249,18 [M+H]⁺.

2,18-bis-(3-[tert-butyl-N-(2-[2-(2-aminoéthoxy)éthoxy]éthyl)-carbamate]amidoéthyl)-3,7,12,17-tétraméthyl-8,13-divinyl porphine (21)



A 100 mg de protoporphyrine IX (0,178 mmol ; 1 éq.) solubilisés dans 10 mL de DMF, sont ajoutés 81 mg de DCC (0,392 mmol ; 2,2 éq.) et 53 mg d'HOBt (0,392 mmol ; 2,2 éq.). Après 30 minutes d'activation, le composé **20** (97 mg ; 0,392 mmol ; 2,2 éq.), solubilisé dans 10 mL de DMF, est additionné goutte à goutte à l'aide d'une ampoule à brome. La réaction est laissée à température ambiante et à l'abri de la lumière durant 3 jours. Après évaporation du DMF et purification par chromatographie sur colonne (CHCl₃ jusqu'à CHCl₃/EtOH : 95/5), le composé **21** sous l'aspect d'un solide violet est obtenu avec un rendement de 88% (161 mg).

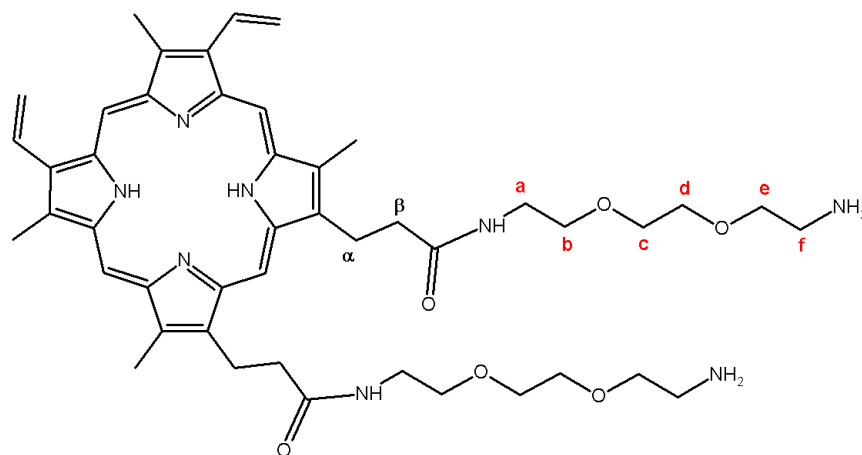
$R_f = 0,48$ (CHCl₃/EtOH : 9/1).

UV-Visible (CHCl₃), λ en nm ($\epsilon \cdot 10^{-3}$) : 407 (173) ; 505 (14,4) ; 541 (11,6) ; 576 (7,0) ; 630 (5,4).

RMN ¹H (CDCl₃) : $\delta_{ppm} = 9,87$ (s, 1H, **H_{més}**) ; 9,83 (s, 1H, **H_{més}**) ; 9,79 (s, 1H, **H_{més}**) ; 9,69 (s, 1H, **H_{més}**) ; 8,12 (dd, J = 11,5 et 17,5 Hz, 1H, **CH_{vinyl}**) ; 8,10 (dd, J = 11,5 et 17,5 Hz, 1H, **CH_{vinyl}**) ; 6,26 (d, J = 17,5 Hz, 2H, **CH_{2vinyl}**) ; 6,11 (d, J = 11,5 Hz, 2H, **CH_{2vinyl}**) ; 5,22 (s, 1H, **NH_{Boc}**) ; 4,47 (s, 1H, **NH_{Boc}**) ; 4,24 (m, 4H, **CH_{2 α}**) ; 3,54 (s, 6H, **CH_{3méthyl}**) ; 3,45 (m, 4H, **CH_{2 β}**) ; 3,44 (s, 6H, **CH_{3méthyl}**) ; 2,98 (m, 8H, **H_{c,d}**) ; 2,61-2,45 (m, 8H, **H_{b,e}**) ; 2,09 (m, 4H, **H_a**) ; 1,77-1,53 (m, 4H, **H_f**) ; 1,27 (s, 18H, **CH_{3Boc}**) ; -4,58 (s, 2H, **NH_{int.}**).

SM (ESI) : m/z = 1023,59 [M+H]⁺.

2,18-bis-(3-[N-(2-[2-(2-aminoéthoxy)éthoxy]éthyl)-amine]amidoéthyl)-3,7,12,17-tétraméthyl-8,13-divinyl porphine (22)



115 mg de **21** sont mis en présence d'un mélange $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{TFA}$: 8/2 (15 mL). Après 3h de réaction sous atmosphère inerte et à température ambiante, le mélange est évaporé. Le produit déprotégé est repris dans un mélange $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$: 7/3 puis neutralisé sur résine basique, filtré et rincé avec du MeOH. Le composé déprotégé **22** sous l'aspect d'un solide violet est obtenu avec un rendement quantitatif (93 mg).

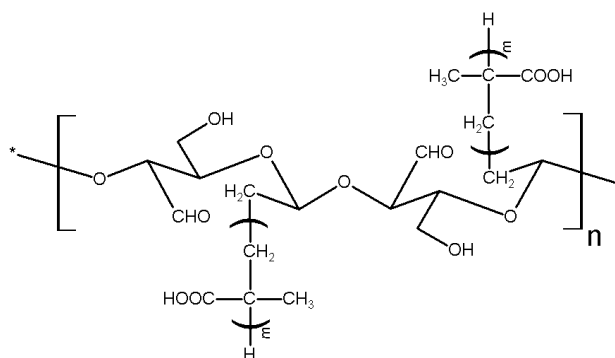
$R_f = 0,25$ ($\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$: 8/2 + 1% TFA).

UV-Visible (MeOH), λ_{max} en nm ($\epsilon \cdot 10^{-3}$) : 402 (85,4) ; 503 (7,6) ; 537 (6,1) ; 574 (3,8) ; 629 (2,8).

RMN ^1H (CD_3OD) : $\delta_{\text{ppm}} = 9,96$ (s, 1H, $\text{H}_{\text{mésO}}$) ; 9,91 (s, 1H, $\text{H}_{\text{mésO}}$) ; 9,67 (s, 1H, $\text{H}_{\text{mésO}}$) ; 9,61 (s, 1H, $\text{H}_{\text{mésO}}$) ; 8,34 (dd, $J = 11,8$ et 17,0 Hz, 1H, CH_{vinyl}) ; 8,24 (dd, $J = 11,8$ et 17,0 Hz, 1H, CH_{vinyl}) ; 6,39 (d, $J = 17,0$ Hz, 2H, $\text{CH}_{2\text{vinyl}}$) ; 6,31 (d, $J = 11,8$ Hz, 2H, $\text{CH}_{2\text{vinyl}}$) ; 4,35 (m, 4H, $\text{CH}_{2\alpha}$) ; 3,61 (s, 12H, $\text{CH}_{3\text{méthyl}}$) ; 3,34 (m, 4H, $\text{CH}_{2\beta}$) ; 3,13-3,00 (m, 8H, $\text{H}_{\text{c,d}}$) ; 2,74-2,69 (m, 8H, $\text{H}_{\text{b,e}}$) ; 2,52-2,46 (m, 4H, H_a) ; 2,30-2,27 (m, 4H, H_f) ; 2,19 (s, 4H, NH_2).

SM (ESI) : $m/z = 823,49$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

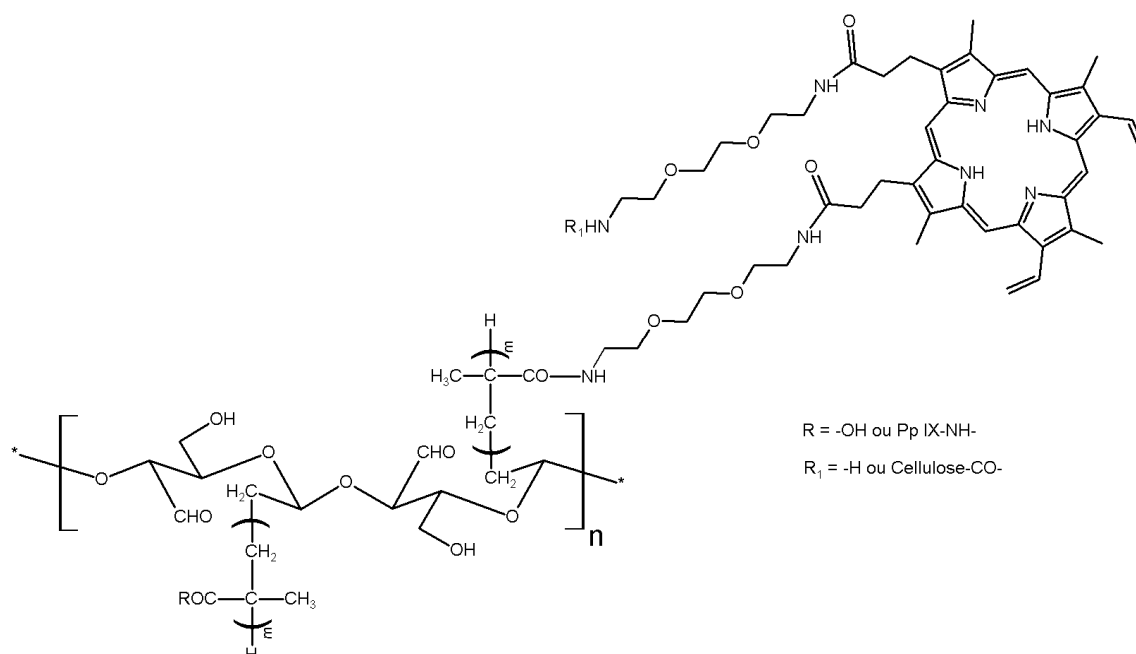
Tissu-*p*-MAA (23)



Le tissu cellulosique (6 morceaux de 3,5 cm x 3,5 cm ; 1,6495 g), préalablement "purifié" dans 100 mL d'acétone à 70 °C pendant 24 heures, est introduit à 125 mL d'une solution de CAN (685 mg ; 1,25 mmol) dans l'HNO₃ 0,08 M. Après bullage sous argon pendant 30 minutes à 35 °C, l'acide méthacrylique (10,6 mL ; 125 mmol) est additionné goutte à goutte. Après 2 heures de réaction à 35 °C et sous argon, le tissu est sorti du milieu réactionnel avant d'être rincé à l'eau (2 x 100 mL), à l'acétone (2 x 100 mL) et au CHCl₃ (2 x 100 mL). Après lavage dans l'acétone (100 mL) à 70 °C durant 24 heures et séchage à 100 °C, le tissu **23** est obtenu avec un rendement massique de 10% (1,8325 g).

ATR-FTIR, ν (cm⁻¹) : 1705 (C=O acide).

Tissu protoporphyrinique (24)



Le tissu **23** (6 morceaux de 3,5 x 3,5 cm ; 1,8325 g ; 12,5 mmol de MAA) est mis en présence de DCC (3,0 g ; 15 mmol ; 1,2 éq./MAA) et de HOBt (2,03 g ; 15 mmol ; 1,2 éq./MAA) dans 60 mL de DMF. Après 24 heures d'activation à température ambiante et sous agitation magnétique, le composé **22** (103 mg ; 0,125 mmol ; 0,01 éq./MAA), solubilisés dans un minimum de DMF, est additionné goutte à goutte. Après 4 jours de réaction à température ambiante et à l'abri de la lumière, le tissu est sorti du milieu réactionnel avant d'être rincé au DMF (2 x 100 mL) puis au MeOH (2 x 100 mL). Après lavage dans le DMF (100 mL) à reflux (120 °C) pendant 24 heures et séchage à 100 °C, le tissu **24** est obtenu avec un taux de greffage de 4,5% (molaire).

ATR-FTIR, ν (cm⁻¹) : 1650 (amide).

DRUV, λ_{max} en nm : 405 ; 505 ; 540 ; 574 ; 629.

8- Photoinactivation bactérienne

Les deux souches bactériennes utilisées pour les essais *in vitro*, conservées à + 4 °C, proviennent de l'Institut Pasteur, Paris : *Escherichia coli* (S2025) et *Staphylococcus aureus* (S2375).

Conditions de croissance bactérienne. Les souches de *S. aureus* et d'*E. coli* sont cultivées sur bouillon de soja tryptique TS (Tryptic soy, DIFCO) durant une nuit à 37 °C en conditions aérobies. Le milieu TS est constitué de 17 g/L d'une digestion pancréatique de caséine, 3 g/L d'une digestion papainique de farine de soja, 2,5 g/L de dextrose, 5 g/L de chlorure de sodium et 2,5 g/L de phosphate dipotassique. Le pH du milieu est fixé à $7,3 \pm 0,2$. Avant utilisation, le milieu est autoclavé pendant 15 minutes à 120 °C. Le milieu de culture est utilisé sous forme de bouillon ou de milieu gélosé par addition d'agar à 15 g/L.

Les cultures liquides de *S. aureus* et d'*E. coli* sont inoculées à raison de 1% (v/v) avec des précultures d'une nuit puis incubées à 37 °C sans agitation.

Source lumineuse. Le dispositif d'éclairage utilisé est un système conçu par la société DIOPTIK® (Limoges, France). La source lumineuse (lumière blanche visible, 400-800 nm) de type LED (*Light-Emitting Diode*) est un modèle Luxéon® Star white Lambertian LXHL-MW1D 5500K (45 lm, 3,42 V, 350 mA). Le système d'éclairage, équipé de six LEDs incorporées dans un support et maintenu à une hauteur de 10 cm des échantillons, est placé à l'intérieur d'une étuve ventilée et thermostatée à 37 °C permettant une croissance bactérienne optimale. La photographie du dispositif PACT est illustrée sur la figure 147.



Figure 147 : Dispositif de PACT.

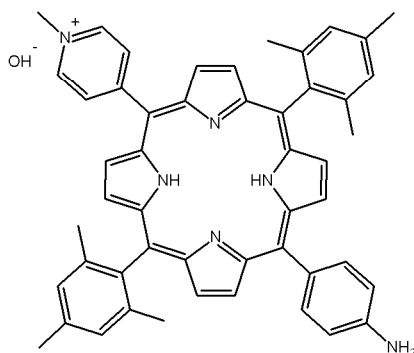
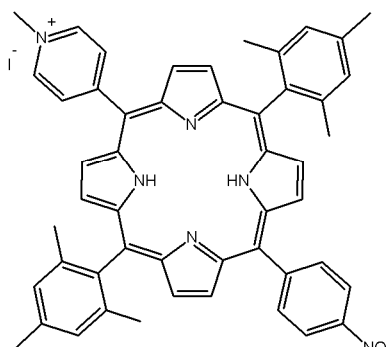
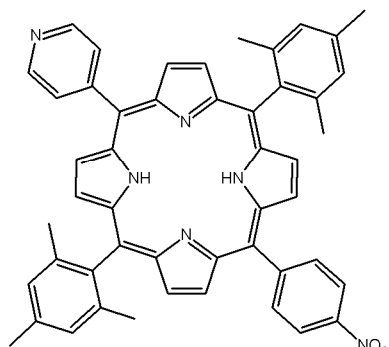
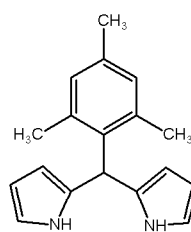
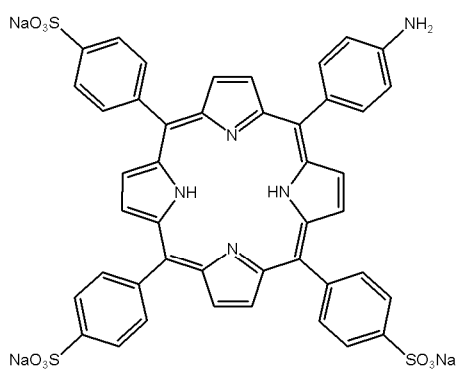
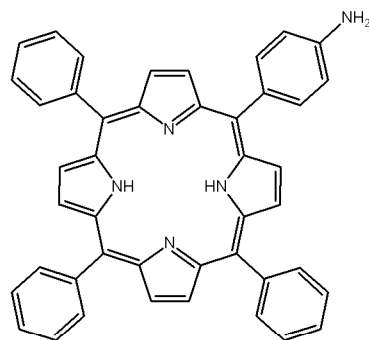
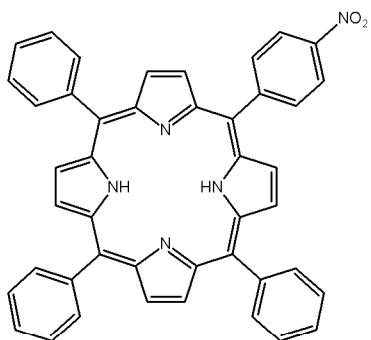
Exposition lumineuse. Les surfaces photosensibles sont irradiées durant 24 heures en conditions aérobies avec une fluence (ou dosimétrie) égale à 9,5 J/cm².

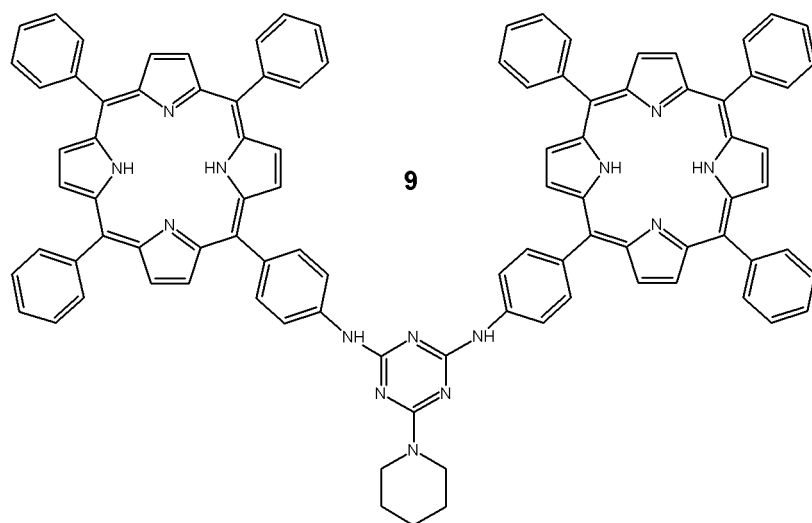
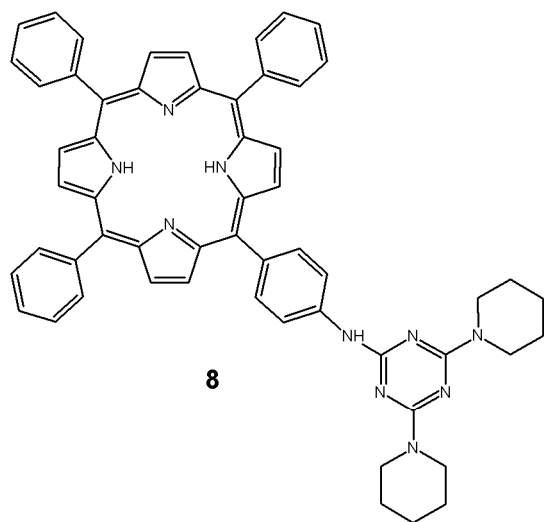
Traitement photodynamique des surfaces. Les tissus photosensibles et les tissus non modifiés (3,5 x 3,5 cm) stériles (autoclavés 15 minutes à 120 °C) sont imprégnés respectivement avec 1 mL d'une suspension bactérienne à une densité de 10⁶ Unité Formant Colonie par mL (UFC/mL) puis déposés dans des boîtes de pétri stériles. Après 24 heures d'incubation à 37 °C sous irradiation lumineuse et atmosphère humide (> 90%), les échantillons sont transférés dans 20 mL de solution d'eau physiologique à 0,5% (v/v) Triton X-100 pour *S. aureus* et à 0,05% (v/v) Triton X-100 pour *E. coli*. Après 15 minutes d'agitation à 250 rpm et à température ambiante, des dilutions en séries sont préparées. 100 µL de chaque dilution sont étalés sur milieu TS gélosé. Après incubation de 24 heures à 37 °C, les cellules bactériennes viables sont dénombrées et les résultats sont exprimés en nombre d'UFC par carré de textile. Chaque essai est réalisé trois fois.

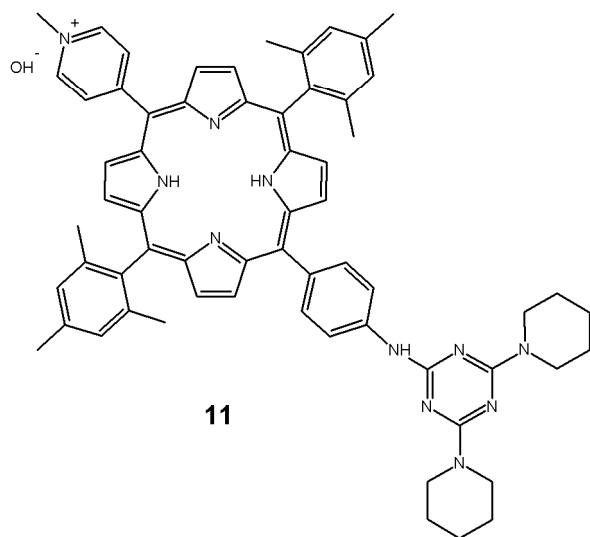
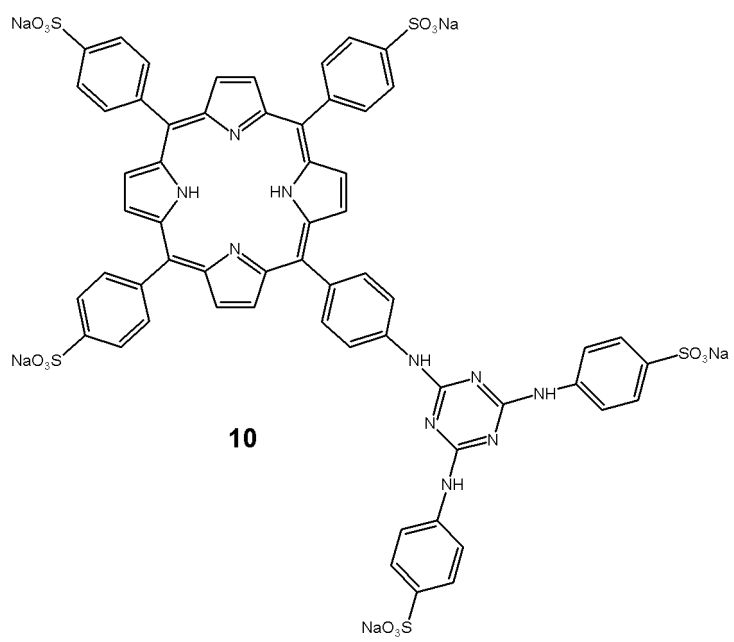
Le nombre moyen de bactéries viables immédiatement après contamination des tissus traités a également été déterminé (t = 0). Les essais contrôles à l'obscurité des tissus traités et non traités ont également été effectués dans les mêmes conditions expérimentales. De plus, l'effet de la solution de Triton X-100 sur la viabilité des souches bactériennes utilisées a été évalué avant la mise au point des tests d'activité antimicrobienne ; aucun effet létal n'a été observé sur *S.aureus* à 0,5% (v/v) et sur *E.coli* à 0,05% (v/v).

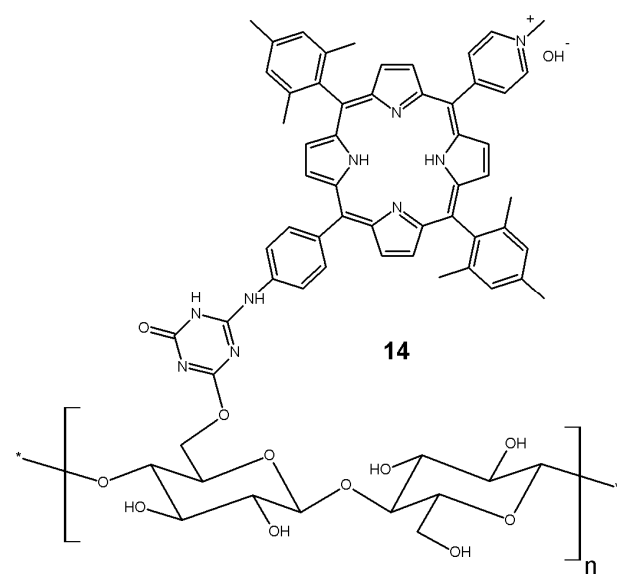
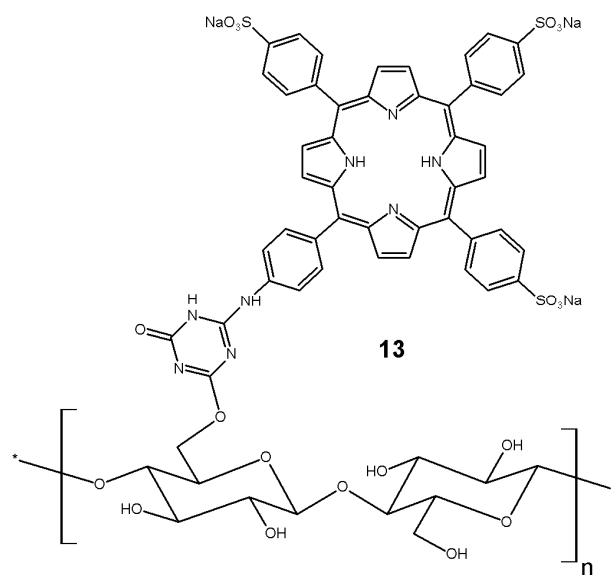
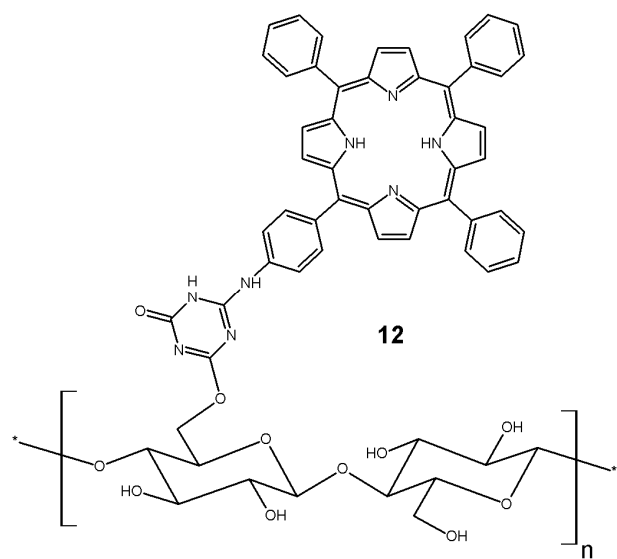
Liste des produits synthétisés

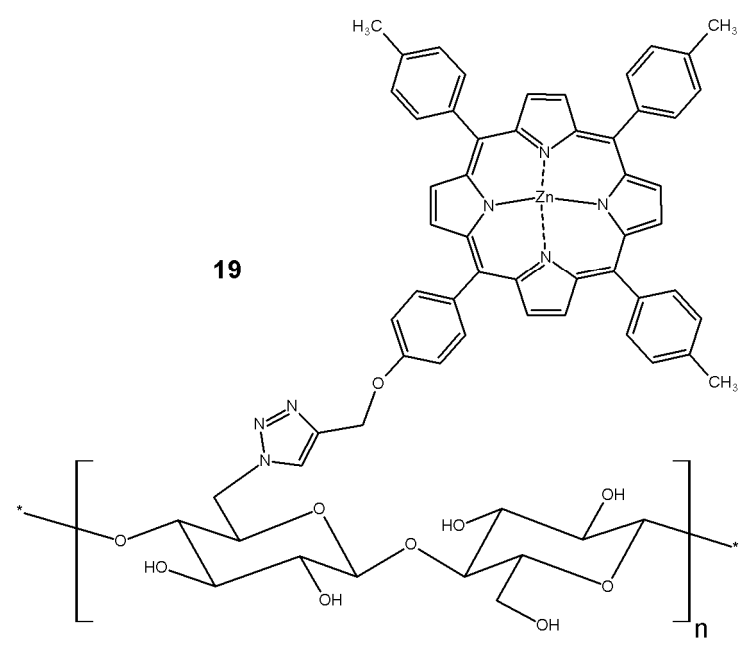
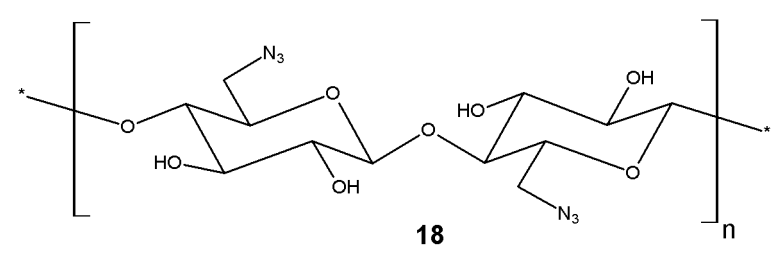
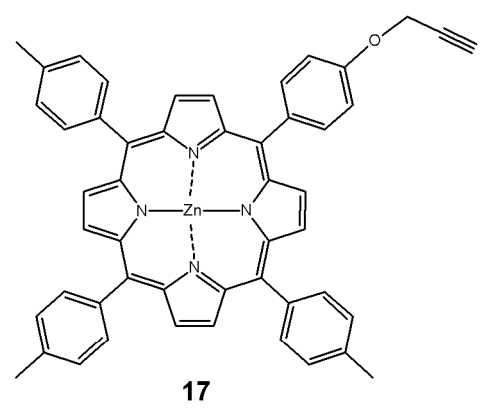
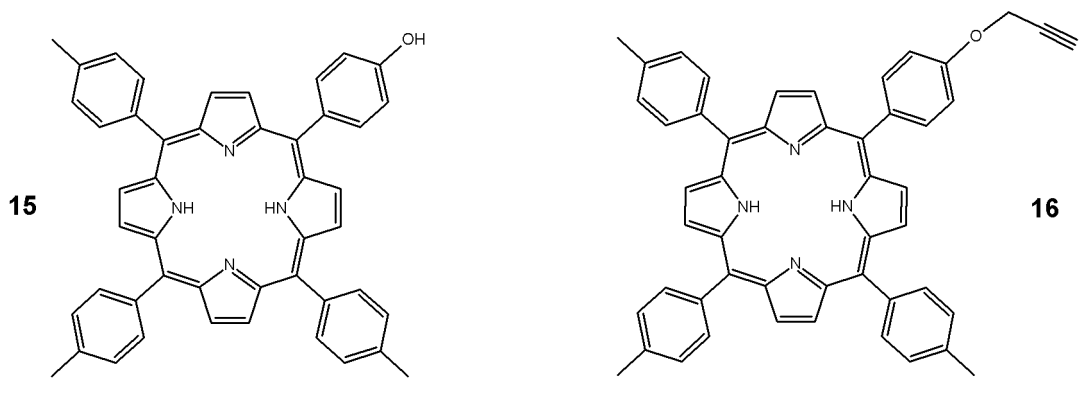
Liste des produits synthétisés

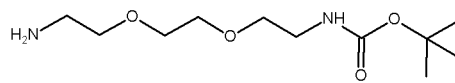




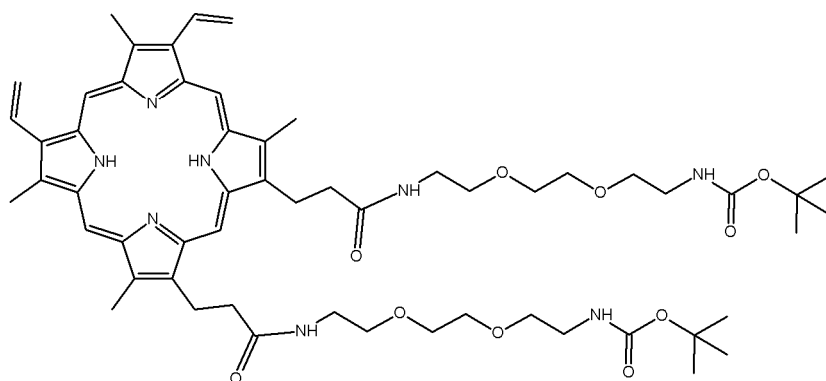




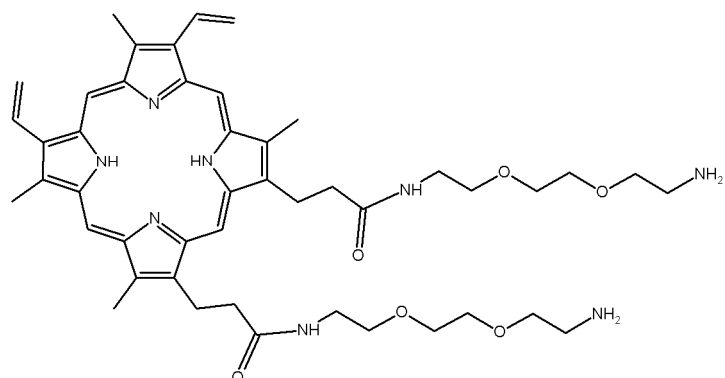




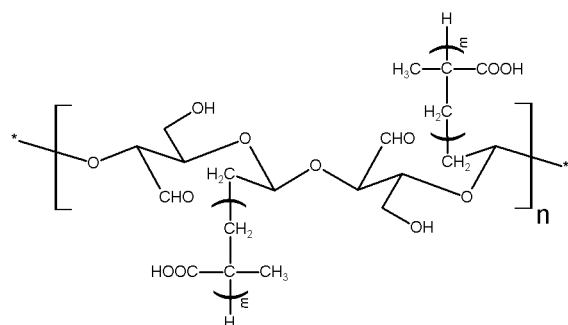
20



21



22



23

24

