

Université de Strasbourg

THESE

présentée pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE STRASBOURG

par

Mamadou LO

**Vers des modèles génériques d'hémoprotéines :
Cas de cytochrome c oxydase**

Soutenue le 15 Mai 2009 devant la commission d'examen

- Rapporteur Externe :** Dr Jean-Michel Barbe, Directeur de Recherche C.N.R.S
à l'Université de Bourgogne Dijon
- Rapporteur Externe :** Dr Guy Royal, Maître de conférences à l'Université de
Grenoble 1
- Rapporteur Interne :** Dr Jean-Paul Collin, Directeur de Recherche C.N.R.S
à l'Université de Strasbourg
- Examineur :** Pr Petra Hellwig, Professeur à l'Université de Strasbourg
- Examineur :** Dr Bernard Boitrel, Directeur de Recherche C.N.R.S à l'Université
de Rennes 1
- Directeur de Thèse :** Dr Jean Weiss, Directeur de Recherche C.N.R.S à l'Université de
Strasbourg

A mon pays le Sénégal

Je dédie ce travail :

A mes parents

A mes petits frères

A Boudy Lo et famille

A Ousmane Sarr et famille

A la mémoire de Baba Mawdo et Boye Samb

Et à tous mes amis

Remerciements

Le travail présenté dans ce manuscrit a été réalisé au laboratoire de Chimie des Ligands à Architecture Contrôlée (CLAC) dirigé par le Dr Jean Weiss.

J'adresse mes vifs remerciements et ma profonde reconnaissance à mon directeur de thèse le Dr Jean Weiss pour m'avoir accueilli *in extrémis* dans son laboratoire et m'avoir initié à la chimie passionnante des porphyrines. Je retiendrais aussi, durant ces trois années et demi passées dans ton laboratoire tes qualités scientifiques et humaines (toujours prêt à rendre service et à aider). Pour la confiance et la liberté de travail que tu m'as accordée pendant tout ce temps je te dis « Diarrama » (comme on dit chez moi). Si ça ne dépendait que de moi, il y'aurait probablement plus de pages de remerciements que de rapport scientifique, merci encore.

Mes remerciements vont aussi aux Docteurs Jean Michel Barbe, Guy Royal, Jean-Paul Collin, Bernard Boitrel et le Professeurs Petra Hellwig pour avoir accepté de juger ce travail.

Je remercie tout le personnel du service de RPE en particulier le Docteur Sylvie Choua et Maxime Bernard pour toutes les mesures RPE et les discussions scientifiques que nous avons eues ensemble

Je suis reconnaissant à toutes les personnes du laboratoire du Dr Bernard Boitrel qui ont travaillé avec moi tout au long de ce projet.

Aux personnels des services communs de RMN, de microanalyse, de cristallographie et de spectrométrie de masse j'adresse aussi mes plus vifs remerciements.

Un grand merci au Dr Jennifer Wytko pour sa gentillesse et sa disponibilité, merci à Pauline pour toute son aide, je n'oublierai pas si tôt ta fameuse phrase « alors Mamadou ça avance », tu vois j'y suis arrivé, maintenant la balle est dans ton camp et courage pour la suite de ta thèse. Je n'oublie pas Vivess et tous les autres stagiaires qui sont passés dans le laboratoire durant toute cette période.

J'ai une pensée sincère aux anciens thésards du laboratoire plus particulièrement à Greg et Mathieu pour avoir guidé mes premiers pas dans le laboratoire et pour tous les bons moments passés ensemble. Ainsi

qu'à Fred dont j'ai pris la suite du sujet. Je n'oublie pas le Dr Dinesh Mahajan mon voisin de paillasse et mon collègue de travail pendant deux ans.

Mes remerciements vont aussi au Pr Corinne Boudon pour toutes les études électrochimiques, à tout le personnel du laboratoire d'électrochimie, Agnès, Christiane à qui je souhaite un bon rétablissement, David et tous les autres membres de l'équipe.

Mention spéciale à Claude et Ruth, avec vous j'ai partagé de très bons moments surtout à table, merci pour votre amitié.

Des remerciements tout particuliers à mes parents, à mes petits frères, à toute la famille du Fouta jusqu'à Dakar en passant par Louga ma ville natale, à tous mes amis du pays, sans oublier ceux de Grenoble pour leur soutien, leur présence et les encouragements.

Et à tous ceux que j'ai pu oublier... un grand Merci

Bien sûr, je ne pourrais pas finir sans remercier le Ministère de l'éducation nationale, de la Recherche et de la technologie Français pour le financement de cette thèse ainsi que l'ANR pour le soutien du projet CHEMBLAST.

Sommaire

Table des matières

TABLE DES MATIERES	2
LISTE DES ABREVIATIONS	5
INTRODUCTION GENERALE	7
CHAPITRE I : INTRODUCTION BIBLIOGRAPHIQUE	10
I GENERALITES SUR LES HEMOPROTEINES	10
II ENZYMES TERMINALES HEME/CUIVRE	12
III CYTOCHROME C OXYDASE	13
III.1 UNE BREVE PRESENTATION DE LA STRUCTURE DU SITE ACTIF.....	13
III.2 MECANISME DE LA REDUCTION DE L'OXYGENE	14
III.2.1 <i>Le transport des électrons</i>	14
III.2.2 <i>Le cycle catalytique</i>	15
III.3 LES MODELES BIOMIMETIQUES DE LA CYTOCHROME C OXYDASE	18
III.3.1 <i>Modèles fonctionnels</i>	18
III.3.2 <i>Les modèles structuraux</i>	28
III.3.2.1 Modèles auto-assemblés par un pont oxygène.....	29
III.3.2.2 Modèles covalents.....	30
III.3.3 <i>Vers des modèles fonctionnels plus avancés</i>	37
III.3.3.1 Mime de la structure protéique	37
III.3.3.2 Contrôle du flux d'électron.....	37
CHAPITRE II: VERS DES MODELES GENERIQUES D'HEMOPROTEINES	43
I INTRODUCTION	43
II GENERALITES SUR LES PORPHYRINES	44
II.1 STRUCTURE DE BASE ET NOMENCLATURE	44
II.2 GEOMETRIE DU CYCLE	45
II.3 CARACTERISTIQUES SPECTRALES.....	46
II.4 SPECTROSCOPIE RMN DU PROTON	48
III SYNTHÈSE DE PORPHYRINES A ANSE PHENANTHROLINE MULTIFONCTIONNELLES MODULABLES	49
III.1 LA PORPHYRINE A ANSE PHENANTHROLINE (PORPHEN)	49
III.2 STRATEGIES SYNTHETIQUES POSSIBLES.....	51
III.2.1 <i>Greffage de résorcinols fonctionnalisés (stratégie 1)</i>	52
III.2.2 <i>A partir de la méso (2,6-diméthoxyphényl)Porphen (40) (stratégie 2)</i>	55
III.2.3 <i>Insertion de fonctions allyles sur le composé 40</i>	56
III.2.3.1 Clivage des fonctions éthers de méthyles	56
III.2.3.2 L'allylation	56
III.2.3.3 Réarrangement de Claisen des fonctions allyles	57
III.3 CARACTERISATION DES PRODUITS 42 ET 43.....	58
III.4 INTRODUCTION DE CHAINES GRASSES PAR METATHESE CROISEE	60
III.5 GREFFAGE DE LA BASE AXIALE ET DU LIGAND AUXILIAIRE	63
III.5.1 <i>Greffage avec des ligands de type imidazole</i>	63
III.5.2 <i>Greffage avec des ligands de type pyridine</i>	65
IV CONCLUSION	67
CHAPITRE III : CARACTERISATION DES LIGANDS ET ETUDES PHYSICOCHIMIQUES DES COMPLEXES DE ZINC ET DE FER	69
I INTRODUCTION	69
II CARACTERISATION RMN DES LIGANDS	69

III	COMPLEXATION DES LIGANDS	74
III.1	COMPLEXATION DU ZINC	74
III.1.1	<i>Caractérisation à l'état solide de ⁵⁷Zn.....</i>	75
III.1.2	<i>Caractérisation des complexes ⁵⁷Zn et ⁶⁰Zn par RMN ¹H.....</i>	76
III.2	COMPLEXATION AVEC LE FER	80
III.2.1	<i>Complexation du fer(III).....</i>	81
III.2.1.1	Caractérisation par RPE	82
III.2.1.2	Etude de la coordination distale par des ligands exogènes.....	85
III.2.1.2.1	Etude UV-Visible.....	86
III.2.1.2.2	Etude RPE	89
IV	CONCLUSION.....	92
CHAPITRE IV : REACTIVITE AVEC LE DIOXYGENE ET ETUDES ELECTROCHIMIQUES DES MODELES DE CYTOCHROME C OXYDASE		95
I	INTRODUCTION.....	95
II	ETUDE DE LA REACTIVITE DU COMPLEXE DE FER(II) [⁵⁷Fe^{II}] AVEC LE DIOXYGENE PAR UV-VISIBLE.....	95
II.1	LE FER(II) DANS LES PORPHYRINES	95
II.2	LE DISPOSITIF EXPERIMENTAL.....	97
II.3	CONDITIONS OPERATOIRES	97
III	RESULTATS ET DISCUSSIONS	98
III.1	EXPERIENCE TEST	98
III.2	SYNTHESE, CARACTERISATION ET REACTIVITE DU COMPLEXE [⁵⁷ Fe ^{II}].....	101
III.2.1	<i>Synthèse du complexe [⁵⁷Fe^{II}].....</i>	101
III.2.2	<i>Caractérisation du complexe [⁵⁷Fe^{II}].....</i>	101
III.2.3	<i>Etude de la labilité du ligand axial</i>	102
III.3	GENERATION DU COMPLEXE DE FER(II) EN PRESENCE DE N-METHYLIMIDAZOLE.....	105
III.4	LE COMPLEXE BINUCLEAIRE FER-CUIVRE	106
IV	ETUDES ELECTROCHIMIQUES	109
IV.1	A PROPOS DE L'ELECTROCHIMIE DES PORPHYRINES.....	109
IV.1.1	<i>Les porphyrines bases libres</i>	109
IV.1.2	<i>Les métalloporphyrines</i>	109
IV.2	COMPORTEMENT ELECTROCHIMIQUE DE [⁵⁷ Fe ^{III}]Cl EN MILIEU ORGANIQUE.....	110
IV.3	ETUDE ELECTROCATALYTIQUE	112
V	CONCLUSION.....	117
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES.....		119
PARTIE EXPERIMENTALE		124
I	GENERAL METHODS AND MATERIALS	124
II	EXPERIMENTAL PROCEDURE SECTION.....	124
II.1	PORPHYRIN 42.....	124
II.2	PORPHYRIN 43.....	126
II.3	PORPHYRIN 53.....	126
II.4	3-(3-PYRIDYL)-1-BROMOPROPANE	127
II.5	PORPHYRIN 57.....	127
II.6	PORPHYRIN 57ZN	128
II.7	PORPHYRIN 57FE	129
II.8	PORPHYRIN 51.....	130
II.9	PORPHYRIN 52.....	130
II.10	PORPHYRIN 60	131
II.11	PORPHYRIN 60ZN	132
II.12	PORPHYRIN 60FE.....	133

II.13	2-BROMORESORCINOL	133
II.14	2-BROMO-1,3-DIALLYLOXYBENZENE	133
II.15	2-BROMO-4,6-DIALLYLRESORCINOL.....	134
II.16	2-BROMO-4,6-DIALLYL-1,3-DIMETHOXYBENZENE	135
II.17	3,5-DIALLYL-2,6-DIMETHOXYPHENYL BORONIC ACID.....	135
III	ELECTROCHEMICAL STUDIES	136
III.1	CYCLIC VOLTAMMETRY	136
III.2	ROTATING RING-DISC ELECTRODE (RRDE) EXPERIMENTS	137
	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	139
	CRISTAL DATA FOR 57ZN	147
	Liste des figures	154
	Liste des tableaux	157

LISTE DES ABREVIATIONS

His	Histidine
Tyr	Tyrosine
ATP	Adénosine triphosphate
NADH	Nicotinamide adénine dinucléotide hydrogénée
FADH ₂	Flavine adénine dinucléotide dihydrogénée
DMF	N,N-diméthylformamide
THF	Tétrahydrofurane
HR-MS	High Resolution Mass Spectrometry
ESI	Electrospray Ionisation
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
RPE	Résonance Paramagnétique Electronique
FTIR	Fourier Transform InfraRed
s	singulet
d	doublet
t	triplet
m	multiplet
TPP	<i>Meso</i> tétraphénylporphyrine
Porphen	Porphyrine à anse phénanthroline
ImH	Imidazole
2-MeImH	2-Méthylimidazole
N-MeIm	N-Méthylimidazole
DBU	1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ène
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry

Introduction générale

Introduction générale

Dans le vivant, les réactions chimiques sont catalysées par des enzymes dans des conditions très douces. Les métalloenzymes sont une famille d'enzymes qui utilisent, au sein de leur site actif, un ou plusieurs métaux pour assurer des fonctions catalytiques spécifiques. Le choix du métal est en général dicté par sa disponibilité dans la biodiversité. Parmi les métaux intervenant dans les processus biologiques, le fer, le cuivre et le zinc sont les plus fréquemment rencontrés.

Depuis longtemps, le désir de reproduire les sites actifs des métalloenzymes a poussé les chimistes à la conception de modèles synthétiques reproduisant le plus fidèlement des sites actifs et leurs environnements protéiques. Ces modèles constituent généralement un bon point de départ pour la compréhension des propriétés catalytiques de systèmes enzymatiques mais les informations obtenues restent parfois incomplètes, soulevant même occasionnellement plus de questions qu'elles n'apportent de réponses.

Parmi ces métalloenzymes, la cytochrome *c* oxydase est connue depuis longtemps pour son rôle au cours de la respiration. Elle contient dans son site actif deux métaux de la bibliothèque du vivant : le fer dans un site hémique et le cuivre dans un site non-hémique. Dans la chaîne respiratoire, la cytochrome *c* oxydase est responsable de la réduction de l'oxygène moléculaire en eau. L'énergie libérée par cette réaction est utilisée pour la production de l'ATP source universelle d'énergie des systèmes biologiques. Cette production d'énergie renouvelable à partir du dioxygène de l'air reste plus que jamais d'actualité dans un monde où les énergies fossiles deviennent de plus en plus rares. Ceci explique en partie l'intérêt et l'engouement suscités par la cytochrome *c* oxydase dans la communauté des biochimistes, des chimistes et d'autres disciplines scientifiques.

Depuis la résolution de la structure de cytochrome *c* oxydase par diffraction des rayons X en 1995, on assiste à un regain d'intérêt pour la conception de modèles mimant son site actif. Ce site bimétallique original constitue un grand défi synthétique pour les chimistes à travers la chimie bioinorganique.

Dans ce contexte, la plupart des modèles fonctionnels et structuraux de cytochrome *c* oxydase qui existent aujourd'hui sont construits sur une hémoprotéine générique : l'*ortho*-tétra-aminophényle porphyrine, et sont en général complexes à préparer. Le choix de cette porphyrine est lié à la connaissance approfondie de sa chimie et surtout son utilisation depuis les années 70 dans la confection de modèles d'hémoprotéines. Notre travail s'inscrit dans cette thématique de construction de modèles de cytochrome *c* oxydase en utilisant une

porphyrine à anse phénanthroline possédant un caractère générique modulable et permettant l'étude de variations fines concernant principalement le site de coordination distal.

Le travail présenté dans ce mémoire s'articule autour de quatre chapitres entourés d'une introduction et d'une conclusion.

Le premier chapitre est consacré à un rappel bibliographique concernant les modèles biomimétiques les plus marquants de cytochrome *c* oxydase depuis la résolution de sa structure aux rayons X en 1995. Après une brève présentation de l'enzyme, nous analyserons l'évolution structurale des modèles biomimétiques et nous nous intéresserons plus particulièrement aux conséquences de petites modifications structurales des modèles biomimétiques sur les propriétés catalytiques du système et/ou sur les adduits oxygénés formés lors de réactions avec l'oxygène moléculaire. Enfin, nous examinerons les progrès accomplis au cours des dernières années visant à rendre les modèles fonctionnels plus "biomimétiques" en essayant de reproduire l'environnement globulaire de la cytochrome *c* oxydase.

Le second chapitre concerne l'élaboration de nos modèles conçus à partir d'une porphyrine à anse phénanthroline multifonctionnelle représentant un matériau de départ "générique". Deux approches synthétiques de nos ligands cibles seront présentées et discutées. La préparation de deux ligands de structures très proches construits à l'aide de cette porphyrine générique illustrera sa modularité fonctionnelle.

Le troisième chapitre sera ensuite consacré, dans un premier temps, à la caractérisation des ligands et des complexes de zinc correspondants par spectroscopie RMN. La structure cristallographique d'un des complexes de zinc sera présentée. Dans un second temps, les complexes de fer(III) également préparés seront caractérisés par spectroscopie RPE. L'étude de l'affinité d'un des complexes de fer(III) pour des ligands exogènes azotés sera examinée par spectrophotométrie UV-Visible et RPE.

Dans le dernier chapitre, nous présenterons d'abord les études d'oxygénation et de carbonylation d'un complexe de fer(II) obtenu par réduction du complexe analogue de fer(III). Cette étude a été suivie par spectrophotométrie UV-Visible. Les études électrochimiques, et plus particulièrement les résultats obtenus en électrocatalyse, seront finalement examinées.

Pour conclure, nous dégagerons les perspectives ouvertes par l'approche "générique" explorée dans ce travail.

CHAPITRE I :

Introduction bibliographique

Chapitre I : Introduction bibliographique

I Généralités sur les hémoprotéines

Les métalloprotéines sont impliquées dans plusieurs processus fondamentaux du vivant. Elles utilisent un nombre restreint de petites molécules comme groupements prosthétiques (cofacteurs) qui accomplissent plusieurs fonctions chimiques.

Les hémoprotéines représentent un des exemples les plus fascinants de cette famille, dont le groupement prosthétique est constitué d'une porphyrine de fer(II) (protoporphyrine IX) (Figure 1).

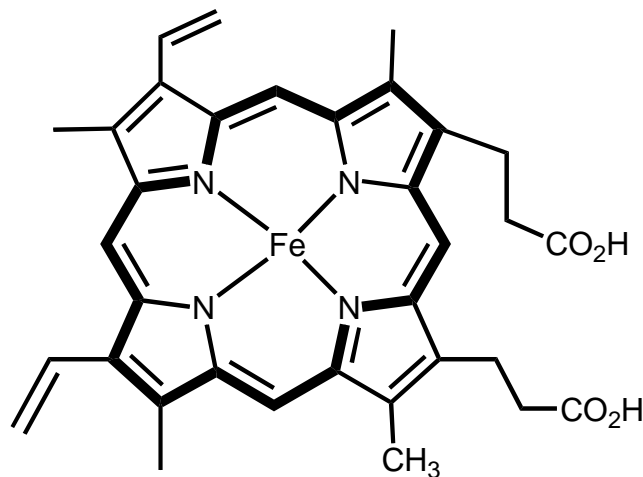


Figure 1: protoporphyrine IX.

L'hème va permettre à la protéine qui le contient de promouvoir des fonctions diverses : stockage et transport dans le cas de la myoglobine et de l'hémoglobine en se liant avec le dioxygène, transfert(s) d'électron dans le cas du cytochrome *c*, catalyse enzymatique pour la cytochrome *c* oxydase, oxydation de substrat organique dans le cas de cytochromes P₄₅₀. Cette liste résume de manière non exhaustive l'éventail des fonctions connues des hémoprotéines.

Il est donc intéressant de se demander comment une structure unique de type hémique (protoporphyrine IX) voit sa réactivité contrôlée et modulée par son environnement direct au sein d'une protéine globulaire.¹

¹ Lippard, S. J. ; Berg, J. M. *Principe de Biochimie Minérale*, De Boeck Université: Paris-Bruxelles, **1997** ; P 349.

Le développement des techniques de haute résolution (RMN, radiocristallographie...), a profondément contribué à la compréhension de la structure, de la réactivité et de la structure électronique des hémoprotéines.

En effet, il est maintenant admis que l'environnement protéique autour du groupement prosthétique contrôle la réactivité intrinsèque du site hémique en sélectionnant une réaction comme la seule, ou la prédominante, pour une fonction. La composition de la protéine et l'organisation structurale des chaînes peptidiques dictent les propriétés au niveau de la première sphère (géométrie autour du métal, nombre et nature du ligand axial) et de la seconde sphère (hydrophobie, liaison hydrogène autour du site actif, constante diélectrique locale) de coordination. Tous ces facteurs contribuent à la fonction spécifique de l'hème.²

Ainsi, la spécificité des fonctions biologiques comme le potentiel d'oxydo-réduction du fer ou la nature du substrat pouvant être oxydé sont considérablement liés à l'organisation des chaînes protéiques autour du groupement prosthétique. En particulier, le fort caractère anionique du ligand axial du fer, capable de stabiliser les hauts degrés d'oxydation et la nature hydrophile des résidus dans la poche distale sont considérés comme les principaux facteurs responsables de spécificité biologique des hémoprotéines.³

Par exemple : le remplacement par mutagenèse de l'imidazole axial de la myoglobine humaine par une cystéine ou une tyrosine comme dans les cytochromes P₄₅₀, les peroxydases ou les catalases, peut causer la perte de la fonction de stockage de l'hémoprotéine pour une fonction d'activation de l'oxygène.⁴

L'environnement protéique de l'hémoprotéine régule également certaines propriétés comme le potentiel rédox du fer. Par exemple, le degré d'oxydation II du fer de l'hémoglobine ou de la myoglobine est favorisé par la présence de résidus protéiques chargés positivement, facilitant la fixation de l'oxygène. Au contraire, le changement de distribution de charges positives dans les cytochromes b vers les charges négatives dans les cytochromes c, autour de l'environnement protéique détermine l'augmentation graduelle du potentiel rédox associé au transfert électronique.²

Bien que le contrôle de la première sphère de coordination soit assez bien compris, la contribution du milieu et le rôle des interactions intermoléculaires ne sont pas complètement rationalisés et la description énergétique de ces interactions reste à établir.

² Lombardi, A. ; Natri, F. ; Pavone, V. *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3165.

³ a) Meunier, B. ; De Visser, S. V. ; Shaik, S. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 3947. b) Banci, L. *J. Biotechnol.* **1997**, *53*, 253.

⁴ Adachi, S. ; Nagano, S. ; Ishimori, K. ; Watanabe, Y. ; Morishima, I. ; Egawa, T. ; Kitagawa, T. ; Makino, R. *Biochemistry* **1993**, *32*, 241.

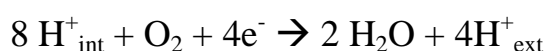
Pour tenter de répondre aux questions en suspens, les chimistes ont synthétisé plusieurs modèles d'hémoprotéines et développé le domaine de la chimie biomimétique pour rationaliser :

- les relations structure-réactivité
- les conditions minimales requises d'une fonction
- la reproduction des propriétés de l'hémoprotéine à travers des dérivés synthétiques "simples" de porphyrines de fer(II).

Pour illustrer cette démarche, nous nous intéresserons à certaines de ces modifications sur des modèles synthétiques de cytochrome c oxydase de la famille des enzymes terminales hème/cuivre.

II Enzymes terminales hème/cuivre

Cette grande famille de métalloenzymes se divise en trois classes : cytochrome *c* oxydase, quinol oxydase et cytochrome *cbb3* oxydase.⁵ Ces métalloenzymes membranaires, constituent les accepteurs finaux des électrons de la chaîne respiratoire chez les bactéries et les mitochondries des eucaryotes. Tous les membres de cette famille catalysent la réduction tétraélectronique de l'oxygène moléculaire en eau, sans production d'espèces toxiques comme les peroxydes et les superoxydes selon la réaction suivante.



Cette réaction exergonique est couplée à une translocation de proton entre l'intérieur et l'extérieur de la membrane mitochondriale ou cytoplasmique. Durant la réaction de réduction du dioxygène, huit protons pénètrent à l'intérieur de la membrane. Quatre de ces protons sont utilisés pour la formation de l'eau et les quatre autres sont transférés vers l'extérieur de la membrane. La force proton-motrice résultante est utilisée par l'ATP synthase pour synthétiser de l'ATP, source d'énergie universelle des systèmes biologiques.

Pour comprendre la structure et le fonctionnement de ces enzymes terminales hème/cuivre plusieurs études en biochimie, spectroscopie, radiocristallographie et chimie

⁵ Boulatov, R. *N₄-Macrocyclic Metal Complexes*, edited by Zagal, J., H.; Bedoui, F.; Dodelet, J. P., Springer Science+business Media, Inc., New York, **2006**.

biomimétique ont été réalisées, démontrant le caractère pluridisciplinaire de l'intérêt suscité par cette grande famille de métalloenzymes.

Nous nous limiterons dans la suite à un exemple de cette famille : la cytochrome *c* oxydase, qui est le seul membre de cette famille présent chez les eucaryotes.⁵

III Cytochrome *c* oxydase

III.1 Une brève présentation de la structure du site actif

Les premières structures cristallographiques de la cytochrome *c* oxydase ont été publiées quasi simultanément pendant l'été 1995.⁶ Il s'agit de structures résolues à 2,8 Å à l'état oxydé de cytochrome oxydase de la bactérie *paracoccus denitrificans* et de la structure à l'état oxydé du site actif de la cytochrome *c* oxydase du cœur de bœuf. Cette dernière sera suivie quelques mois plus tard par la publication de la structure complète de l'enzyme.^{6c} Les structures de cette enzyme à l'état oxydé et réduit, liée avec de petites molécules (azide, monoxyde de carbone) résolues à 2,35 ; 2,8 et 2,9 Å seront également obtenues.⁷ Depuis lors, la résolution de la structure de l'enzyme bovine a été améliorée à 1,8 Å pour l'état oxydé et 1,9 Å pour l'état réduit.⁸

La structure tridimensionnelle de cytochrome *c* oxydase du muscle de cœur de bœuf résolue à 2,8 Å est un dimère. Chaque monomère, de masse molaire 240 kD, comprend 13 sous unités. L'enzyme contient sept centres métalliques dans son état au repos : deux sites hémiques et un site cuivrique (hème-*a* bas spin, hème-*a*₃ haut spin et Cu_B), un complexe binucléaire de cuivre (Cu_A valence mixte) et enfin deux centres non rédox zinc et magnésium. Le site actif de l'enzyme est représenté sur la figure ci-dessous.

⁶ a) Tsukihara, T. ; Aoyama, H. ; Yamashita, E. ; Tomizaki, T. ; Yamaguchi, H. ; Shinzawa-Itoh, K. ; Nakashima, R. ; Yaono, R. ; Yoshikawa, S. *Science* **1995**, 272, 1069. b) Iwata, S. ; Ostermeier, C. ; Ludwig, B. ; Michel, H. *Nature* **1995**, 376, 660.

c) Tsukihara, T. ; Aoyama, H. ; Yamashita, E. ; Tomizaki, T. ; Yamaguchi, H. ; Shinzawa-Itoh, K. ; Nakashima, R. ; Yaono, R. ; Yoshikawa, S. *Science* **1996**, 272, 1136.

⁷ Yoshikawa, S. ; Shinzawa-Itoh, K. ; Nakashima, R. ; Yaono, R. ; Yamashita, E. ; Inoue, N. ; Yao, M. ; Fei, M. J. ; Libeu, C. P. ; Mizushima, T. ; Yamaguchi, H. ; Tomizaki, T. ; Tsukihara, T. *Science* **1998**, 280, 1723.

⁸ Tsukihara, T. ; Shimokata, K. ; Katayama, Y. ; Shimida, H. ; Muramoto, K. ; Aoyama, H. ; Mochizuki, M. ; Shinzawa-Itoh, K. ; Yamashita, E. ; Yao, M. ; Ishimura, Y. ; Yoshikawa, S. *PNAS* **2003**, 100, 15304.

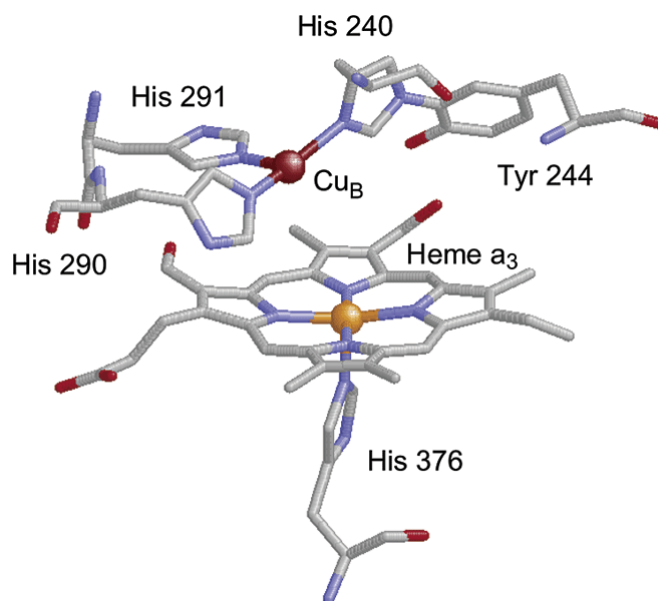


Figure 2 : structure du site actif de la Cytochrome *c* Oxydase (PDB 10CR, structure visualisée avec Rasmol)

Le site bimétallique est constitué d'une porphyrine de fer(III/II), dont la coordination proximale est assurée par une histidine (His 376), et d'un site complexant d'un cuivre appelé Cu_B, où ce dernier est lié à trois histidines (His 290, His 291, His 240). Une des trois histidines (His 240) est liée de manière covalente à une tyrosine (Tyr 244). La distance entre les deux sites métalliques dépend du degré d'oxydation des métaux et de la nature des ligands exogènes des centres métalliques. Elle varie entre 4,9 et 5,3 Å.⁹

III.2 Mécanisme de la réduction de l'oxygène

III.2.1 Le transport des électrons

Pendant la respiration, les électrons sont générés par NADH et FADH₂ et sont transportés vers le site de réduction du dioxygène par une série de transporteurs d'électrons de la membrane interne des mitochondries (Figure 3). Ces transporteurs : NADH déhydrogénase (complexe I), succinate déhydrogénase (complexe II), cytochrome *bc*₁ (complexe III), cytochrome *c* oxydase (complexe IV) constituent la chaîne respiratoire. En plusieurs endroits de la chaîne respiratoire, des protons sont pompés à travers la membrane mitochondriale

⁹ Kim, E. ; Chufan, E. E. ; Kamaraj, K. ; Karlin, K. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 1077

interne créant une force proton-motrice utilisée par l'ATP synthase (complexe V) pour synthétiser l'ATP.¹⁰

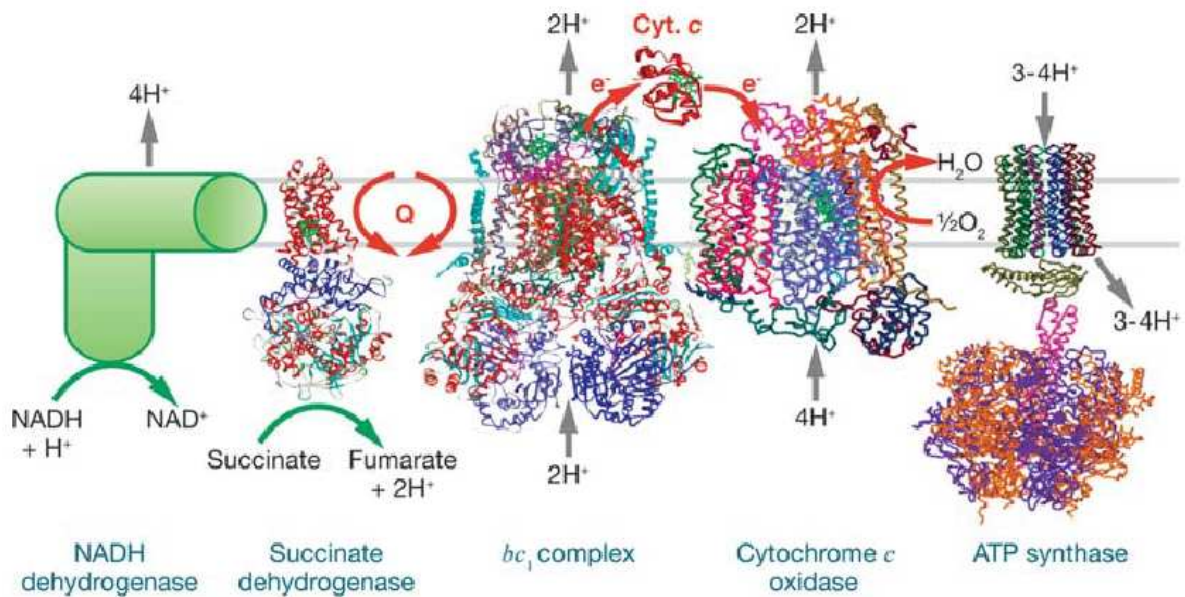


Figure 3 : complexes de la chaîne respiratoire ¹¹

III.2.2 Le cycle catalytique

Pendant le cycle catalytique, le cytochrome *c* fournit les électrons nécessaires à la réduction tétraélectronique de l'oxygène moléculaire en eau. Ces électrons passent d'abord par le complexe de cuivre Cu_A , puis ils sont transférés sur l'hème-*a* bas spin, avant que ce dernier les achemine vers le site catalytique hème- a_3 - Cu_B de l'enzyme. Le mécanisme de la réduction du dioxygène a été étudié selon deux états différents de l'enzyme au départ : l'état complètement réduit $Cu_A(I)$, $Fe_a(II)$, $Fe_{a_3}(II)$, $Cu_B(I)$ et l'état à « valence mixte » $Cu_A(II)$, $Fe_a(III)$, $Fe_{a_3}(II)$, $Cu_B(I)$. Le cycle catalytique de la réduction du dioxygène est résumé sur la figure ci-dessous.

¹⁰ Saraste, M. *Science* **1999**, 283, 1488

¹¹ Hosler, J. P. ; Ferguson-Miller, S. ; Mills, D. A. *Annu. Rev. Biochem.* **2006**, 75, 165.

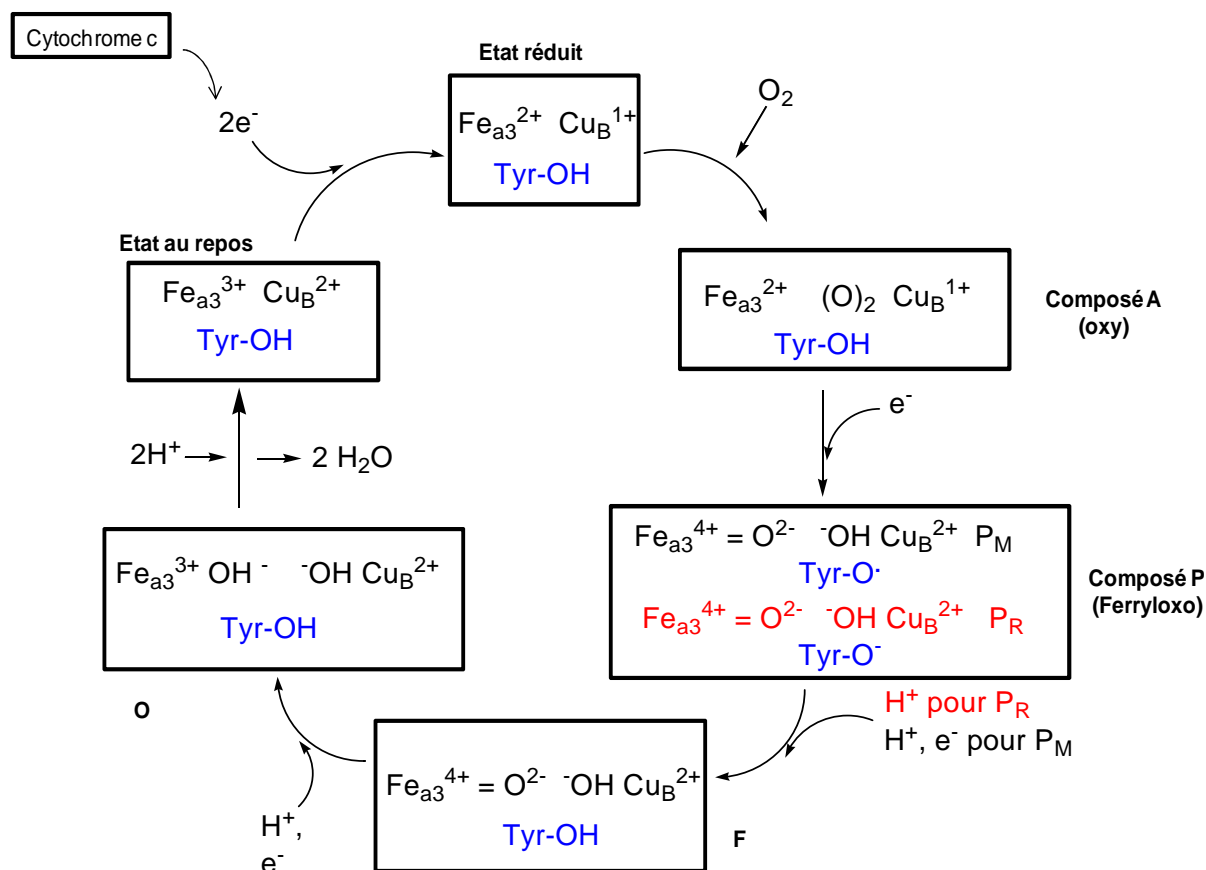


Figure 4 : cycle catalytique de la réduction du dioxygène en eau (YOH: tyrosine 244)^{22b}

Le cycle catalytique commence par une association de la molécule d'oxygène avec Cu_B , suivi par un transfert vers l'hème- a_3 ,¹² pour former le premier intermédiaire observable qui est le composé **A** (Fe^{III} -superoxo).¹³ Cette étape est suivie par la rupture hétérolytique de la liaison $\text{O}-\text{O}$ qui nécessite la présence de quatre électrons et d'un proton pour former l'intermédiaire ferryl-oxo ($\text{Fe}^{\text{IV}}=\text{O}$) et Cu_B-OH (composé **P**).^{14,15,13} Trois des quatre électrons nécessaires sont donnés par l'hème- a_3 (deux électrons) et Cu_B (un électron). La provenance du quatrième électron dépend de l'état de départ de l'enzyme. Quand la catalyse commence par l'état complètement réduit de l'enzyme, le quatrième électron est directement fourni par l'hème- a (composé P_R).¹⁶ Quand la réaction de l'enzyme avec l'oxygène commence par l'état valence mixte (composé P_M), le quatrième électron est alors fourni par un résidu aminoacide voisin. Des études menées dans ce domaine tendent à montrer que ce

¹² Varotsis, C. ; Zhang, Y. ; Appelman, E. H. ; Babcock, G. T. *PNAS* **1993**, *90*, 237.

¹³ Chance, B. ; Saronio, C. ; Leigh, J. S. *J. Biol. Chem.* **1975**, *250*, 9226.

¹⁴ Proshlyakov, D. A. ; Pressler, M. A. ; Babcock, G. T. *PNAS* **1998**, *95*, 8020

¹⁵ Gorbikova, E. A. ; Belevich, I. ; Wikström, M. ; Verkhovsky, M. I. *PNAS* **2008**, *105*, 10737.

¹⁶ a) Hill, B. C. *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 2419. b) Hill, B. C. *J. Biol. Chem.* **1991**, *266*, 2219.

dernier électron et le proton nécessaire pour accomplir cette réaction, pourraient être donnés par la tyrosine 244 (YOH).¹⁷ Ce quatrième électron doit être délivré assez rapidement pour qu'il n'y ait pas formation d'intermédiaire toxique de type peroxydes. La durée de la transformation de $\mathbf{A} \rightarrow \mathbf{P}$ est estimée <170 μs à l'état valence mixte et de 30 μs pour l'état complètement réduit.¹⁸ La rapidité de la transformation $\mathbf{A} \rightarrow \mathbf{P}_R$ par rapport à la transformation $\mathbf{A} \rightarrow \mathbf{P}_M$ est attribuée à la vitesse du transfert électronique entre l'hème-*a* et le site binucléaire. Le transfert électronique se fait en même temps que l'extinction du composé \mathbf{A} . Ainsi, la disponibilité d'un électron dans l'hème-*a* est à l'origine de la différence de réactivité entre l'état complètement réduit et l'état valence mixte.^{19,16b,20}

Comparé à \mathbf{P} , l'intermédiaire \mathbf{F} contient un proton de plus, mais son origine n'est pas exactement connue (tyrosine 244, résidus acides aminés...).²¹ L'intermédiaire final \mathbf{O} est un hydroxyde ferrique qui est formé lorsque les quatre électrons sont localisés dans les deux centres métalliques. Sa formation est dépendante du pH et la transition $\mathbf{F} \rightarrow \mathbf{O}$ est couplée à la translocation de proton.^{5,22}

Pour étudier le mécanisme de la réduction du dioxygène dans la cytochrome *c* oxydase, des techniques biochimiques (mutagénèse) et spectroscopiques (Raman, UV-Visible, RPE, FTIR...) ont été utilisées.^{23 22a} Malgré des techniques de plus en plus perfectionnées, il reste encore de nos jours beaucoup de zones d'ombre dans ce mécanisme.

Un moyen de les éclaircir, consiste à élaborer des modèles "biosynthétiques" de cytochrome *c* oxydase. Cette voie, explorée par Lu *et al.*, a fait l'objet d'une revue récente.²⁴

Un autre moyen d'apporter des informations, consiste à élaborer des complexes métalliques synthétiques, reproduisant la fonction du site actif : c'est l'approche biomimétique.

¹⁷ a) Proshlyakov, D. A. ; Pressler, M. A. ; Demaso, C. ; Leykam, J. F. ; Dewitt, D. L. ; Babcock, G. T. *Science* **2000**, *290*, 1588. b) Babcock, G. T. *PNAS* **1999**, *96*, 12971.

¹⁸ Morgan, J. E. ; Verkhovsky, M. I. ; Palmer, G. ; Wikström, M. *Biochemistry* **2001**, *40*, 6882.

¹⁹ Han, S. ; Ching, Y. ; Rousseau, D. L. *PNAS* **1990**, *87*, 8408.

²⁰ a) Fabian, M. ; Palmer, G. *Biochemistry* **1995**, *34*, 13802. b) Michel, H. ; Behr, J. ; Harrenga, A. ; Kannt, A. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **1998**, *27*, 329.

²¹ Gorbikova, E. A. ; Wikström, M. ; Verkhovsky, M. I. *J. Biol. Chem.* **2008**, *283*, 34907.

²² a) Ferguson-Miller, S. ; Babcock, G. T. *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 2889. b) Siletsky, S. A. ; Han, D. ; Brand, S. ; Morgan, J. E. ; Fabian, M. ; Geren, L. ; Millett, F. ; Durham, B. ; Konstantinov, A. A. ; Gennis, R. B. *Biochimica et Biophysica Acta* **2006**, *1757*, 1122. c) Michel, H. *PNAS* **1998**, *95*, 12819. d) Gennis, R. B. *PNAS* **1998**, *95*, 12747.

²³ Hellwig, P. ; Pfitzner, U. ; Behr, J. ; Rost, B. ; Pesavento, R. P. ; von DonK, W. ; Gennis, R. B. ; Michel, H. ; Ludwig, B. ; Maentele, W. *Biochemistry* **2001**, *41*, 9116.

²⁴ Yeung, Y. ; Lu, Y. *Chemistry & biodiversity* **2008**, *5*, 1437.

III.3 Les modèles biomimétiques de la cytochrome *c* oxydase

Les modèles biomimétiques ont l'avantage d'être relativement simples de manipulation, et d'architecture contrôlée. Ils permettent de reproduire certaines caractéristiques spectroscopiques et fonctionnelles de l'enzyme, et de les associer à des caractéristiques structurales.

Des avancées considérables ont été observées dans la conception de modèles biomimétiques de cytochrome *c* oxydase depuis la publication de la structure aux rayons X du site actif en 1995. Les études des modèles biomimétiques de la cytochrome *c* oxydase ont beaucoup contribué à la compréhension de la chimie de l'oxygène dans le site actif. A travers la littérature on distingue deux familles de modèles :

- les modèles fonctionnels développés par Collman et Boitrel destinés surtout aux études électrocatalytiques et à la réalisation de la réduction à quatre électrons de l'oxygène.
- les modèles structuraux développés par Karlin et Naruta reproduisant un état particulier du site actif de l'enzyme. Ils sont plutôt utilisés pour l'étude des interactions entre l'oxygène et le site hème-cuivre.

Cependant, il serait inconcevable de les séparer, puisqu'un nombre important de ces modèles structuraux sont aussi des modèles fonctionnels. Ces modèles, de conception souvent très proche, se présentent sous forme d'une porphyrine de fer rattachée à des ligands azotés prévus, dans la plupart des cas, pour la complexation de cuivre sur la face distale.

III.3.1 Modèles fonctionnels

En 1994, Collman *et al.* ont publié le premier modèle superstructuré de cytochrome *c* oxydase (Figure 5) ²⁵ découlant de leurs travaux sur les modèles d'hémaprotéines (hémoglobine, myoglobine).²⁶

Son intérêt initial pour cette thématique s'explique par la conjonction de trois objectifs :

- la mise au point d'un catalyseur pour la réduction tétraélectronique de l'oxygène moléculaire.
- la synthèse de modèles de myoglobines.

²⁵ Collman, J. P. ; Herrmann, P. C. ; Boitrel, B. ; Zhang, X. ; Eberspacher, T. A. ; Fu, L. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 9783.

²⁶ Collman, J. P. *Inorg. Chem.* **1997**, *36*, 5145.

- trouver une méthode générale d'introduction d'un macrocycle sur une porphyrine (tétra-accepteur de Michael) en une seule étape.

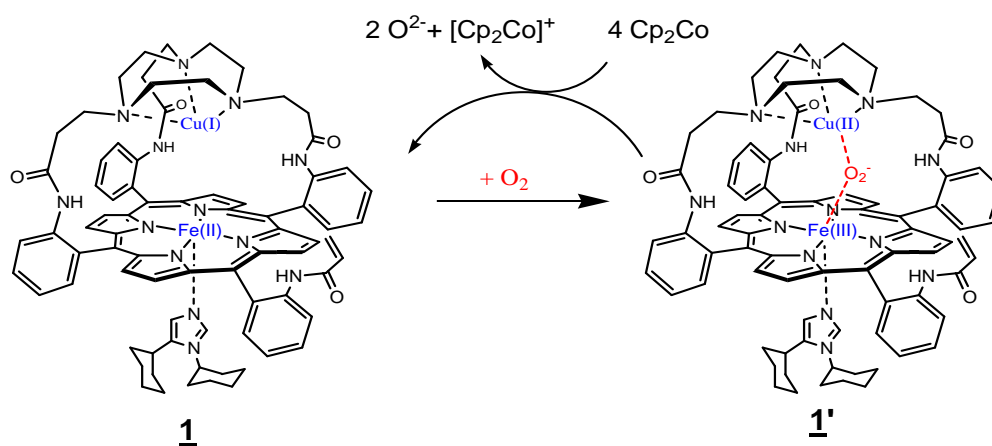


Figure 5 : modèle de Collman *et al.* à chapeau TACN avec une base exogène

Dans ce premier modèle, le complexe « *triazacyclononane capped porphyrin* » associe une porphyrine de fer(II) et un chapeau triazacyclononane (TACN) prévu pour le cuivre. Les deux sites de complexation sont reliés par des liaisons amides qui pour les auteurs, fournissent assez de flexibilité pour maintenir la distance Fer—Cuivre entre 4,5 et 5,5 Å. Le complexe réagit irréversiblement avec O₂ pour former un adduit **1'** diamagnétique résultant d'un couplage antiferromagnétique entre le fer(III) bas spin et le cuivre(II) à travers un pont oxygéné, avec une stoechiométrie 1 : 1 en présence d'excès de base encombrée (1,5-dicyclohexylimidazole). Les études en spectroscopie Raman ont montré que l'adduit est sous forme peroxyo.²⁵

La réduction de cet adduit **1'** nécessite 4 équivalents de cobaltocène (4 électrons).²⁵ En effet le cobaltocène est utilisé comme réducteur monoélectronique de l'adduit. Le nombre d'équivalents de cobaltocène nécessaire pour régénérer l'espèce désoxygénée correspond au nombre d'électrons mis en jeu dans la réaction.

En 1995, la publication de la structure du site actif de la cytochrome *c* oxydase a considérablement dynamisé et généralisé l'intérêt pour ce type d'édifice.

Deux ans plus tard, Collman *et al.* ont publié le premier modèle fonctionnel de cytochrome *c* oxydase.²⁷ Ce modèle qui ressemble à celui publié en 1994 (Figure 5), est marqué par l'introduction d'une base axiale de type imidazole, dite « base embarquée »,

²⁷ Collman, J. P. ; Fu, L. ; Herrmann, P. C. ; Zhang, X. *Science* **1997**, 275, 949.

rattachée de manière covalente à la partie porphyrinique et par le remplacement du fer par le cobalt (Figure 6).

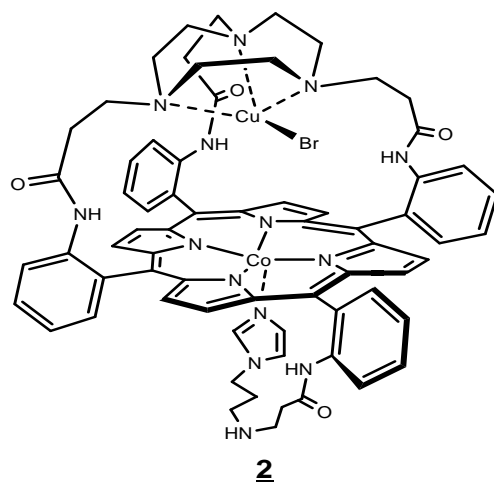


Figure 6 : premier modèle fonctionnel de cytochrome c oxydase à pH physiologique.

Pour étudier le caractère fonctionnel des modèles, l'électrocatalyse sur électrode rotative « disque-anneau » (RDE) s'est révélée être une méthode de choix. Cette technique est très utilisée pour l'étude du comportement biomimétique des modèles hème/Cuivre. L'électrode, qui sert à la fois de support de catalyseur et de donneur d'électrons est formée d'un disque de graphite, entouré d'un anneau de platine, ces deux composants étant séparés par du téflon. Le schéma de l'électrode est représenté ci-dessous

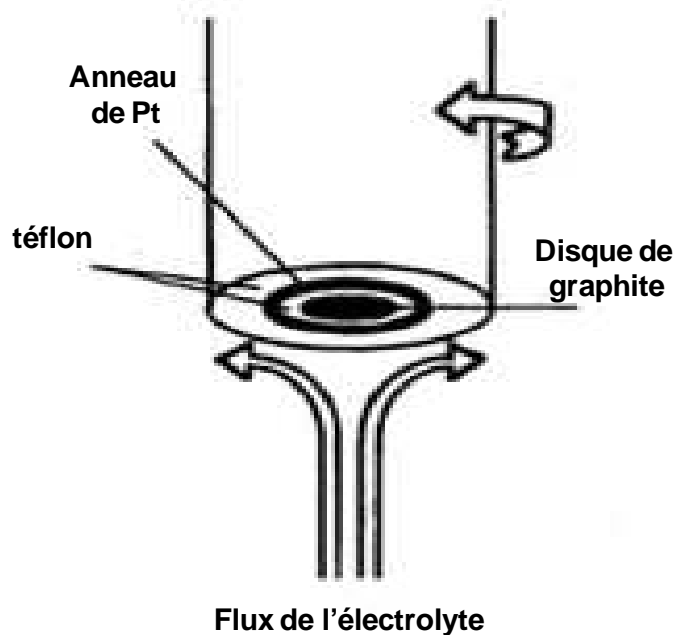


Figure 7 : schéma d'une l'électrode rotative « disque-anneau » (RDE)

Le potentiel de l'anneau est fixé de telle sorte qu'il puisse réoxyder en oxygène les espèces partiellement réduites du dioxygène (eau oxygénée en général). Les catalyseurs insolubles dans l'eau sont adsorbés sur le disque de graphite, et l'ensemble est plongé dans une solution aqueuse tamponnée à pH physiologique par des phosphates et en général saturée en dioxygène. Le potentiel de réduction de l'oxygène est déterminé par balayage du potentiel du disque et la sélectivité du catalyseur est déterminée en fonction de la quantité d'espèces partiellement réduites formées (mesure du courant à l'anneau).²⁸

Ainsi, les études en électrocatalyse du modèle **2** ont montré qu'il effectue la réduction tétraélectronique du dioxygène en eau à pH physiologique et sans production d'eau oxygénée comme dans le système naturel. Ces études ont aussi mis en évidence le rôle crucial du cuivre et de la base axiale interne dans ce modèle. En effet, l'électrocatalyse menée séparément avec le modèle sans cuivre et le modèle sans base axiale interne montre une activité à deux électrons.²⁷

Cependant, le modèle analogue fer(II)-cuivre(I) (**3**) (Figure 8) effectue une réduction diélectronique du dioxygène avec production d'eau oxygénée.²⁹ Pour expliquer cette différence de réactivité, les auteurs ont étudié par voltampérométrie cyclique en absence de dioxygène les deux catalyseurs **2** et **3**. Cette étude a montré que le potentiel Co(III)/Co(II) est plus élevé que le potentiel Cu(II)/Cu(I) pour le catalyseur **2** alors que l'inverse est observé pour le catalyseur **3** ($\text{Fe(III)/Fe(II)} < \text{Cu(II)/Cu(I)}$). Ainsi pour le catalyseur **3**, le cuivre fixe l'oxygène en premier, dans ce cas, la molécule de dioxygène est soit orientée dans la cavité du macrocycle où elle est soit orientée à l'extérieur du cycle. Dans ce dernier cas, le cuivre seul interagit avec le dioxygène, ce qui serait à l'origine de la réduction diélectronique.²⁶

Pour trouver un modèle fer(II)-cuivre(I) capable de réduire le dioxygène en eau, les auteurs ont apporté des modifications sur la partie distale du modèle fonctionnel **2**.

Dans la partie distale, le chapeau TACN a été remplacé par un chapeau *tribenzyl-tris(aminoethyl)amine* (TBTen). Le nouveau modèle (**4**) (Figure 8) ainsi obtenu permet dans les conditions physiologiques de réaliser une réduction tétraélectronique du dioxygène en eau.

²⁸ Collman, J. P. ; Boulatov, R. ; Sunderland, C. J. ; Fu, L. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 561.

²⁹ Collman, J. P. ; Fu, L. ; Herrmann, P. C. ; Wang, Z. ; Rapta, M. ; Bröring, M. ; Schwenninger, R. ; Boitrel, B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 3397.

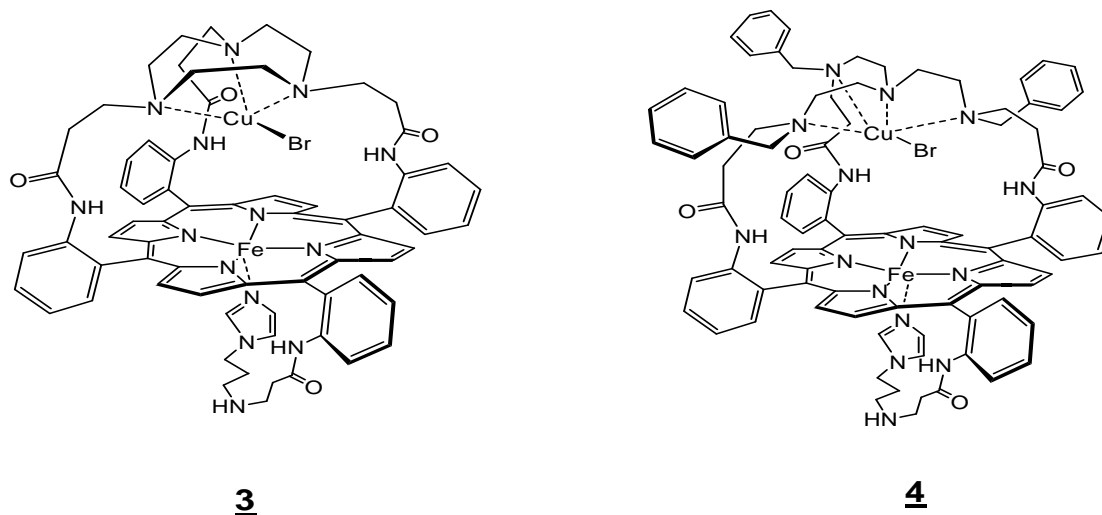


Figure 8 : modèles de Collman *et al.* à chapeau TACN et TBTen avec base axiale embarquée

Les modèles fonctionnels **3** et **4** forment des adduits stables avec le dioxygène, de stoechiométrie 1:1 mis en évidence par spectroscopie UV-Visible. Les spectres des deux adduits diamagnétiques observés en RMN montrent l'existence d'un couplage antiferromagnétique entre les centres métalliques fer(III) et cuivre(II) à travers un pont μ -peroxo. La réaction des deux adduits avec le cobaltocène nécessite deux équivalents pour régénérer le complexe **3** (réduction diélectronique) et quatre équivalents pour le complexe **4** (réduction tétraélectronique) comme ce qui est observé en électrocatalyse. La différence de potentiel de demi-vague mesurée en voltampérométrie cyclique démontre l'effet de la structure distale sur le potentiel $\text{Cu}^{\text{I}}/\text{Cu}^{\text{II}}$. Le chapeau TACN flexible, où le cuivre(I) est coordonné par trois atomes d'azote rend l'état oxydé cuivre(II) moins stable que le chapeau TBTen qui est moins flexible, mais plus encombré, et contient quatre atomes d'azote. Dans ce dernier, le centre ferrique se réduit éventuellement en premier pour fixer le dioxygène dans la cavité distale, puis le cuivre se lie à son tour au dioxygène pour s'oxyder.²⁹

Ces résultats semblent démontrer la sensibilité de l'état peroxo à l'environnement de la structure distale dans les modèles et surtout le rôle important du potentiel rédox du cuivre qui peut décider de la réduction diélectronique ou tétraélectronique de l'oxygène.

Toujours dans le même groupe de recherche, en conservant le chapeau TACN, le remplacement de la base proximale de **3** par une base, de type pyridinique moins flexible ou par une base de type N-benzylimidazole plus rigide a permis d'obtenir de nouveaux modèles fonctionnels (Figure 9).

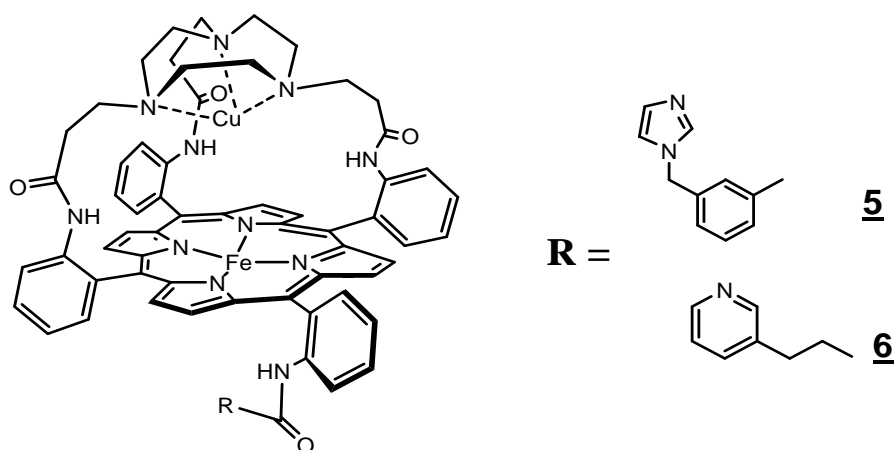


Figure 9 : modèle de Collman *et al.* à chapeau TACN avec deux bases axiales différentes

Contrairement au modèle fer(II)-cuivre(I) **3**, les nouveaux modèles fer(II)-cuivre(I) **5** et **6** montrent en électrocatalyse une réduction à quatre électrons avec une formation négligeable d'eau oxygénée. En électroréduction, le potentiel de demi-vague du dioxygène est de 45 mV plus positif pour le complexe **5** que le complexe **6**. Ces deux complexes représentent les premiers modèles fonctionnels de cytochrome c oxydase dont les propriétés catalytiques sont modulées par un léger changement structural de la base proximale de la porphyrine.³⁰

Dans le même domaine, Boitrel *et al.* ont étudié un modèle fonctionnel dont le site de complexation du cuivre est un tripode tris(2-aminoéthyl)-amine avec une base axiale proximale exogène (non relié à la porphyrine) (Figure 10).

³⁰ Collman, J. P. ; Schwenninger, R. ; Rapta, M. ; Bröring, M. ; Fu, L. *Chem. Commun.* **1999**, 137.

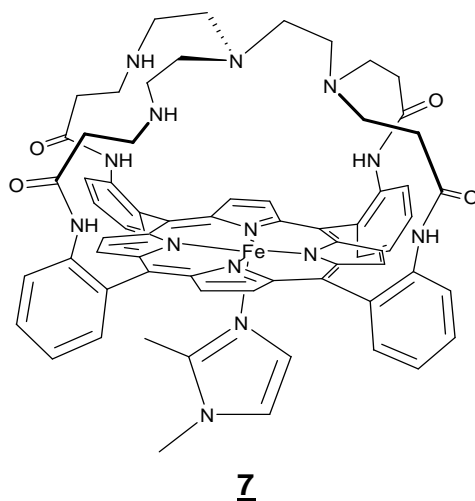


Figure 10 : modèle de Boitrel *et al.*

Cette étude a montré qu'en électrocatalyse une porphyrine avec un seul atome de fer est capable de catalyser de façon très sélective la réduction tétraélectronique du dioxygène en eau à pH physiologique.³¹ Cette étude pose surtout la question du rôle du cuivre dans les modèles lors de la réduction. D'autant plus que le modèle fer(II)-cuivre(I) s'est révélé moins efficace. Ces résultats montrent que la présence du cuivre n'est pas un prérequis pour obtenir une activité à quatre électrons en électrocatalyse. Sur le plan mécanistique, ces résultats excluent la formation d'un intermédiaire μ -peroxo, mais penchent plutôt pour la formation d'un intermédiaire hydroperoxo ; ce qui est en contradiction avec les modèles précédemment cités. Cette étude met en exergue une des limites de l'électrocatalyse dans laquelle le catalyseur adsorbé à l'électrode reçoit les électrons et les protons très rapidement. Ce cas de figure est en effet à l'inverse du système naturel où les électrons sont délivrés un par un par le cytochrome c, et où le cuivre sert plutôt de réservoir d'électrons nécessaires pour la réduction, justifiant ainsi sa présence.

Avec le modèle « générique » **7**, l'influence de petites modifications de la structure de la poche distale et de son environnement électronique sur les propriétés électrocatalytique ont pu être explorées par Boitrel *et al.* (Figure 11).

³¹ Ricard, D. ; Andrioletti, B. ; L'Her, M. ; Boitrel, B. *Chem. Commun.* **1999**, 1523.

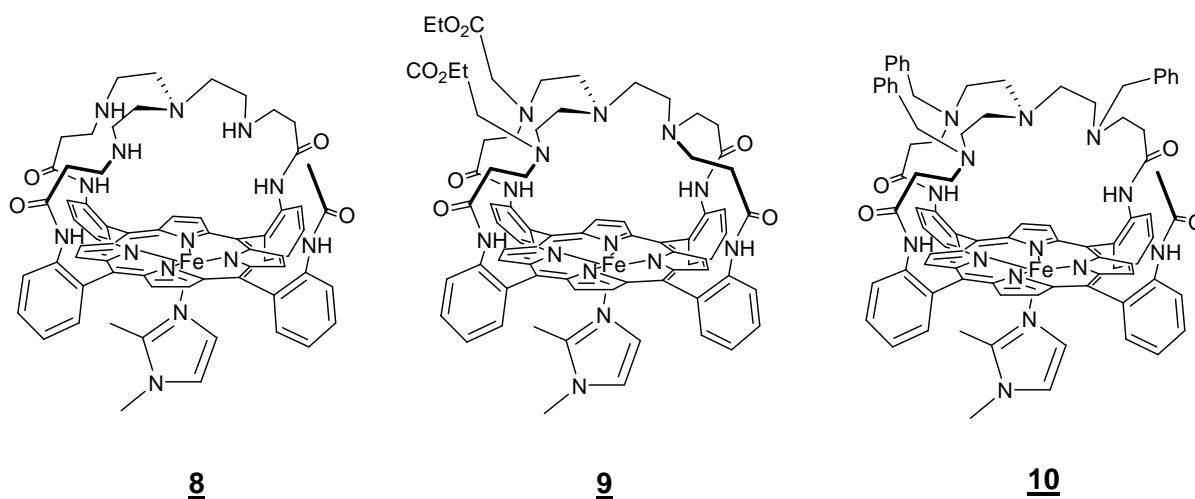


Figure 11 : variations distales sur les modèles développés par Boitrel *et al.*

Les études électrocatalytiques des nouveaux modèles **8**, **9**, **10** ont confirmé les résultats précédemment acquis avec le modèle **7**.³² D'autres modèles de cytochrome *c* oxydase ont aussi été étudiés par Boitrel *et al.*³³

Pour rendre ce type de modèles plus biomimétiques, le groupe de Collman a remplacé les chapeaux TACN ou TBTrén par des groupements donneurs de types imidazoles. La complexation du cuivre est alors assurée par trois imidazoles comme dans le système naturel (Figure 12).

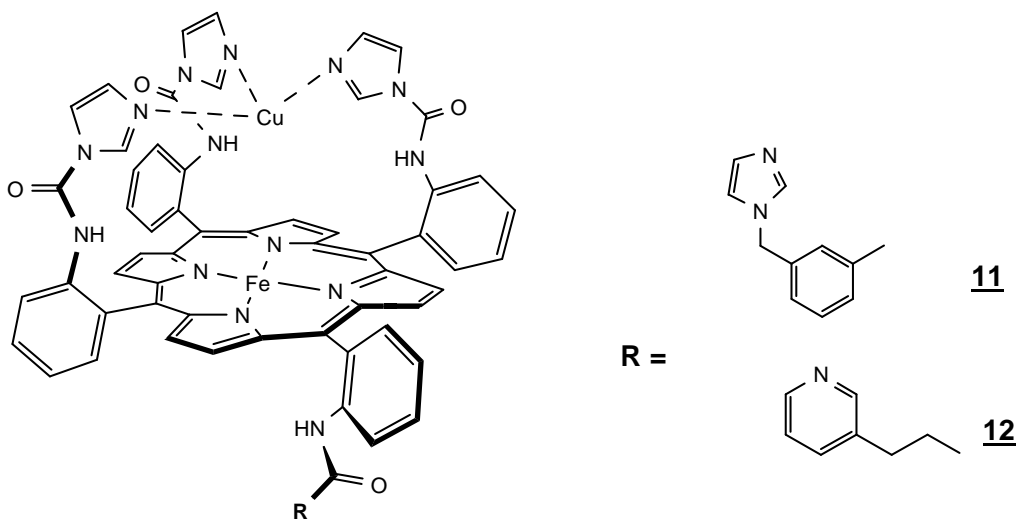


Figure 12 : modèles de Collman *et al.* avec uniquement des imidazoles comme complexant du cuivre et des bases axiales différentes.

³² a) Ricard, D. ; L'Her, M. ; Richard, P. ; Boitrel, B. *Chem. Eur. J.* **2001**, 7, 3291.

b) Ricard, D.; Didier, A.; L'Her, M. ; Boitrel, B. *C. R. Chimie* **2002**, 5, 33.

³³ a) Didier, A.; L'Her, M.; Boitrel, B. *Org. Biomol. Chem.* **2003**, 1, 1274.

b) Ricard, D.; Didier, A. ; L'Her, M. ; Boitrel, B. *Chembiochem* **2001**, 2, 144.

c) Andrioletti, B.; Ricard, D.; Bernard, B. *New J. Chem.* **1999**, 23, 1143.

Les deux premiers modèles développés dans ce domaine (**11** et **12**) ont montré une activité très propre (pas de formation d'eau oxygénée) en électroréduction du dioxygène en eau à pH physiologique. La différence entre les deux bases axiales se manifeste en électrocatalyse par un déplacement plus positif de la vague catalytique **11** (ligand axial imidazolique) que **12** (ligand axial pyridinique) comme cela avait déjà été observé avec les modèles à chapeau TACN (**5** et **6**).³⁴

Dans le même esprit, une série de modèles beaucoup plus structurés se rapprochant de l'environnement électronique et stérique du site actif de la cytochrome *c* oxydase a été synthétisée et étudiée³⁵ (Figure 13).

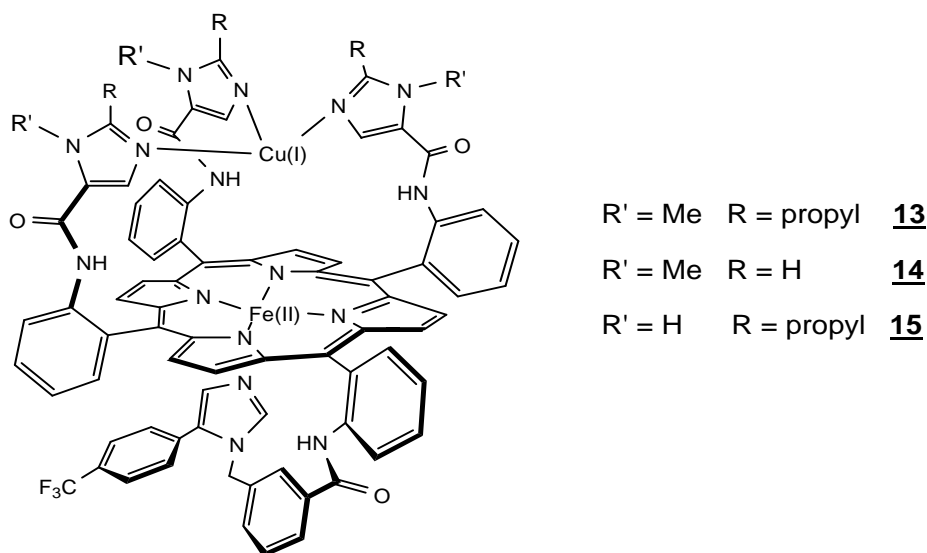


Figure 13 : série de modèles très « biomimétiques »

Les complexes **13**, **14**, **15** ont une activité à quatre électrons très efficace. Avec cette série de complexes, les auteurs ont essayé de comprendre l'effet du cuivre en étudiant le comportement électrocatalytique des complexes fer-cuivre et des complexes fer seul. Il apparaît d'après ces études, dans un régime de flux d'électrons rapides, que le rôle du cuivre est d'éliminer les peroxydes formés responsables de l'auto oxydation de l'adduit O₂-catalyseur.³⁶ De plus, les complexes présentent des réactivités plutôt différentes vis-à-vis de l'oxygène.³⁶

³⁴ Collman, J. P. ; Rapta, M. ; Bröring, M. ; Raptova, L. ; Schwenninger, R. ; Boitrel, B. ; Fu, L. ; L'Her, M. J; *Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 1387.

³⁵ Collman, J. P. ; Sunderland, C. J. ; Boulatov, R. *Inorg. Chem.* **2002**, *41*, 2282.

³⁶ Boulatov, R. ; Collman, J. P. ; Shiryayeva, I. M. ; Sunderland, C. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 11923.

Le fait le plus marquant est l'observation à température ambiante d'un intermédiaire superoxyde stable **13-O₂** (Figure 14) dans un solvant aprotique. Cet intermédiaire ressemble beaucoup au composé A du cycle catalytique de la réduction du dioxygène dans le système naturel. Cet intermédiaire a été caractérisé en utilisant plusieurs techniques spectroscopiques : les études en UV-Visible ont montré une stœchiométrie 1:1 (**13** : O₂), ceux de RMN et de RPE ont révélé qu'il était diamagnétique et enfin la spectroscopie Raman a permis aux auteurs de caractériser les vibrations les plus importantes ($\nu(\text{Fe}-\text{O})$, $\nu(\text{O}-\text{O})$).³⁷

Afin de mimer la tyrosine 244 de la cytochrome *c* oxydase, Collman *et al.* ont étudié la réaction intermoléculaire entre l'adduit **13-O₂** et deux phénols stériquement encombrés (**16**, **17**, Figure 14).

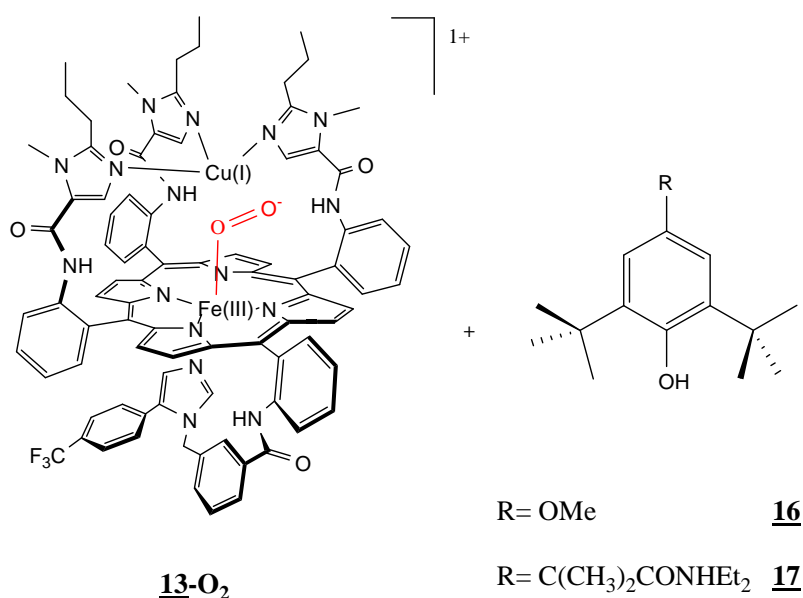


Figure 14 : réaction intermoléculaire entre un adduit et un phénol encombré

Cette étude a démontré que la réaction entre le modèle biomimétique du composé **A** (**13-O₂**) et un ligand exogène, ici le phénol encombré (**16** ou **17**) mimant la tyrosine 244, formait un radical phénoxy à température ambiante comme dans l'enzyme. La formation d'un adduit ferryloxo (composé **P**) a également été mise en évidence.³⁸

Dans le même esprit, les auteurs ont pu étudier une réaction intramoléculaire similaire avec un modèle de cytochrome *c* oxydase plus avancé. Dans ce modèle, un phénol est lié de

³⁷ Collman, J. P. ; Sunderland, C. J. ; Berg, K. E. ; Vance, M. A. ; Solomon, E. I. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 6648.

³⁸ Collman, J. P. ; Decréau, R. A. ; Sunderland, C. J. *Chem. Commun.* **2006**, 3894.

manière covalente à un des imidazoles du modèle **14**. Ce nouveau modèle (**18**) est un des premiers modèles reproduisant le plus fidèlement le site actif de cytochrome *c* oxydase (Figure 15).³⁹

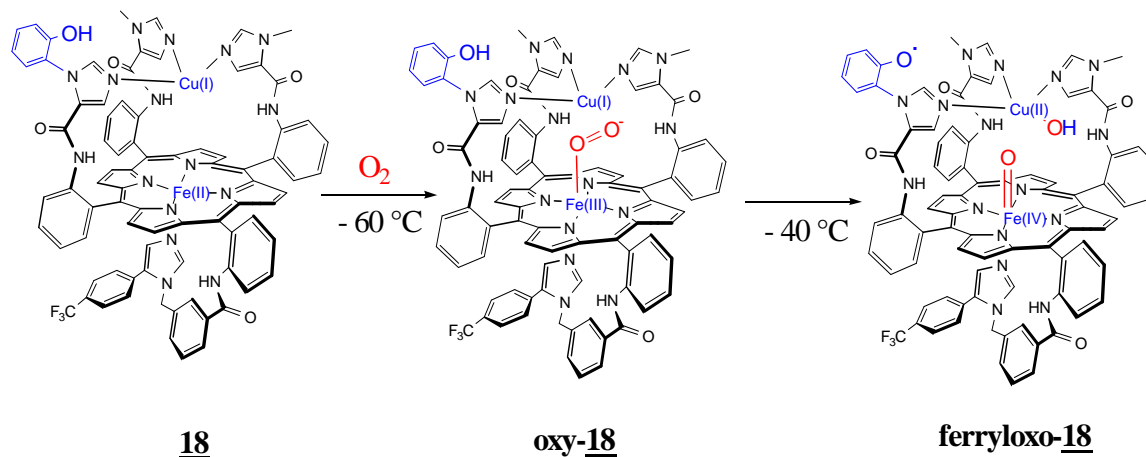


Figure 15 : réaction de formation d'intermédiaires oxy et ferrylloxo avec un modèle à fort caractère « biomimétique » de Collman *et al.*

La réaction de **18** avec le dioxygène produit un composé Oxy à - 60°C (composé **A**) et un composé ferrylloxo à - 40°C (composé **P**) (Figure 15). Les auteurs ont ainsi démontré que le groupement phénolique se comportait comme donneur de proton et d'électron pour la rupture de liaison O—O comme dans le système naturel. De plus, ce modèle constitue aussi un bon mime pour produire l'intermédiaire ferrylloxo **P**.⁴⁰

III.3.2 Les modèles structuraux

Un autre type de modélisation du site actif de la cytochrome *c* oxydase a été envisagé pour comprendre et reproduire les détails structuraux du site actif. Cette méthode tente d'élucider les aspects fondamentaux des interactions du dioxygène avec les sites hémiques et cuivriques. Beaucoup d'attention s'est portée sur la compréhension de l'influence de l'ion cuivre sur la chimie hème-dioxygène et/ou de l'hème sur la chimie dioxygène-cuivre. Cette voie a été explorée essentiellement par les groupes de Karlin et Naruta. Nous nous intéresserons plus particulièrement à quelques exemples marquants de complexes décrits par ces deux auteurs qui sont très proches dans leur conception. Le lecteur désirant de plus amples informations sur d'autres modèles structuraux pourra se reporter à une revue récente de Karlin en 2004.⁹

³⁹ Collman, J. P. ; Decréau, R. A. ; Zhang, C. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 3546.

⁴⁰ Collman, J. P. ; Decréau, R. A. ; Yan, Y. ; Yoon, J. ; Solomon, E. I. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 5794.

III.3.2.1 Modèles auto-assemblés par un pont oxygène

Dans ces modèles, les deux sites de coordination hémique et cuivrique sont reliés par un pont oxygéné par des liaisons de coordination. Ce sont de véritables mimés structuraux du site actif. Nous nous intéresserons plus particulièrement à deux complexes synthétisés et étudiés par Karlin *et al.*, comportant chacun la même porphyrine de fer dont le ligand du cuivre est soit un tétradentate ou un tridentate (Figure 16). Ces complexes se présentent très souvent sous forme de pont μ -oxo ou μ -hydroperoxo.

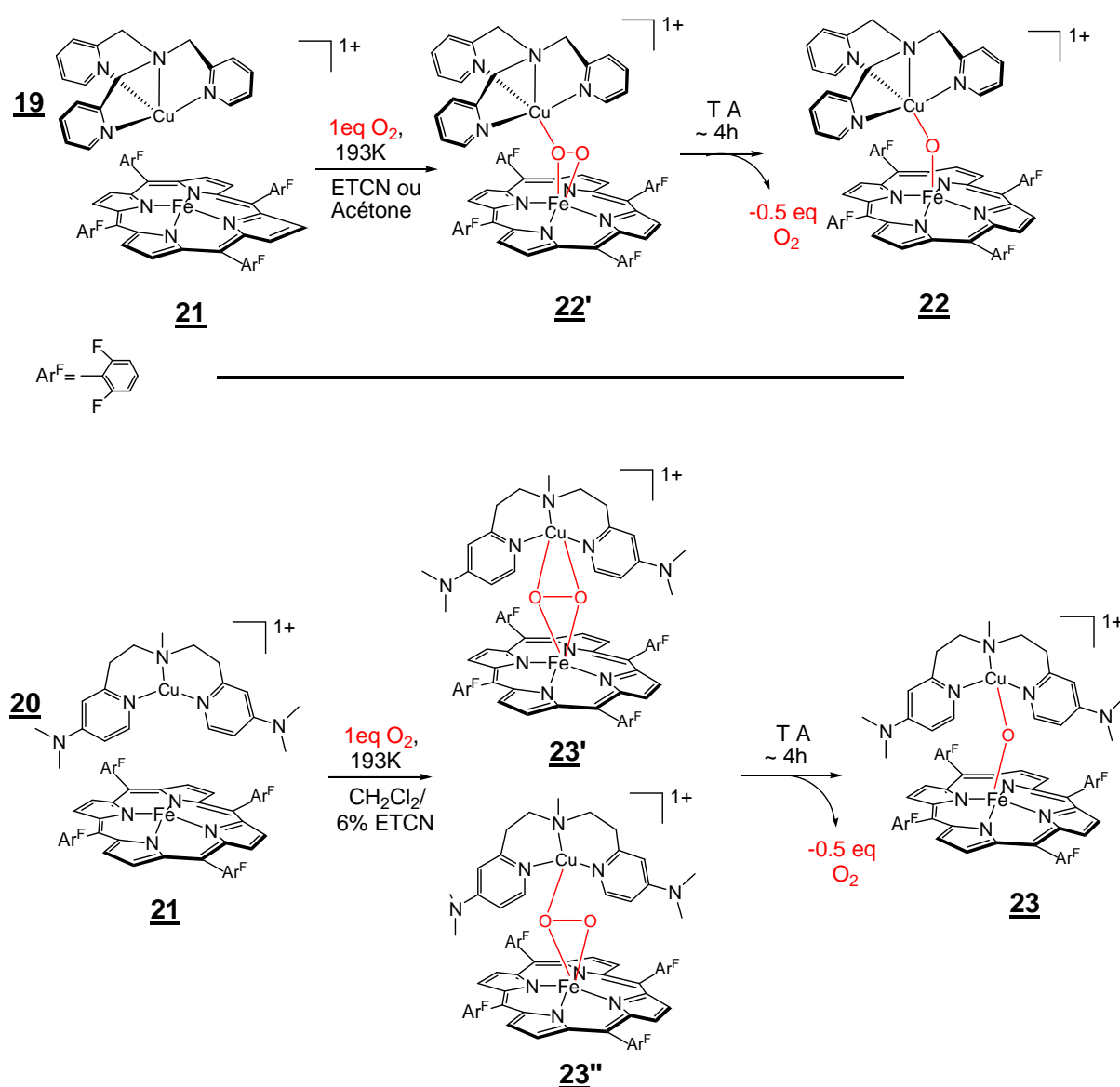


Figure 16 : modèles auto-assemblés

Les deux complexes sont obtenus en faisant réagir des quantités stœchiométriques des complexes de cuivre(I) **19** ou **20** avec la porphyrine de fer(II) **21** en présence d'un équivalent de dioxygène.

Lors des études en spectroscopie à basse température (193 K) Karlin *et al.* ont mis en évidence le rôle important de la nature du ligand cuivrique sur le mécanisme. Ils ont proposé différents intermédiaires possibles suivant la nature du ligand. Ainsi, avec le ligand tétradentate de **19** la formation de **22** passe par un intermédiaire $\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^1\text{-peroxo}$ (**22'**),⁴¹ alors qu'avec le ligand tridentate de **20** deux intermédiaires sont possibles, $\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2\text{-peroxo}$ et $\mu\text{-}1,2\text{-peroxo}$ (**23'** et **23''**).⁴² Les espèces $\mu\text{-oxo}$ **22** et **23** sont obtenues par retour à température ambiante des solutions contenant les intermédiaires respectifs **22'**, **23'**, et **23''**. Par ailleurs, le remplacement d'une des pyridines du complexe **19** par un imidazole couplé avec un phénol comme dans la tyrosine 244, n'a pas entraîné de grand changement structural sur le nouvel adduit oxygéné ($\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^1\text{-peroxo}$) obtenu dans des conditions semblables.⁴³

III.3.2.2 Modèles covalents

Karlin *et al.* ont développé deux complexes binucléaires covalents **24** et **25** (Figure 17), analogues au système **19**, **21**. Dans ces nouveaux édifices, le complexe de cuivre **19** est lié de manière covalente à la porphyrine de fer(II) par une liaison éther en position 5 (**24**) ou 6 (**25**) d'un des bras pyridiniques.

⁴¹ Ghiladi, R. A. ; Chufan, E. E. ; Del Rio, D. ; Solomon, E. I. ; Krebs, C. ; Huynh, B. H. ; Huang, H. W. ; Loccoz, P. M. ; Kaderli, S. ; Honecker, M. ; Zuberbühler, A. D. ; Marzilli, L. ; Cotter, R. J. ; Karlin, K. D. *Inorg. Chem.* **2007**, *46*, 3889.

⁴² Kim, E. ; Helton, M. E. ; Wasser, I. M. ; Karlin, K. D. ; Lu, S. ; Huang, H. W. ; Moënné-Loccoz, P. ; Incarvito, C. D. ; Rheingold, A. L. ; Honecker, M. ; Kardeli, S. ; Zuberbühler, A. D. *PNAS* **2003**, *100*, 3623.

⁴³ Kim, E. ; Kamaraj, K. ; Galliker, B. ; Rubie, N. D. ; Moënné-Loccoz, P. ; Kardeli, S. ; Zuberbühler, A. D. ; Karlin, K. D. *Inorg. Chem.* **2005**, *44*, 1238.

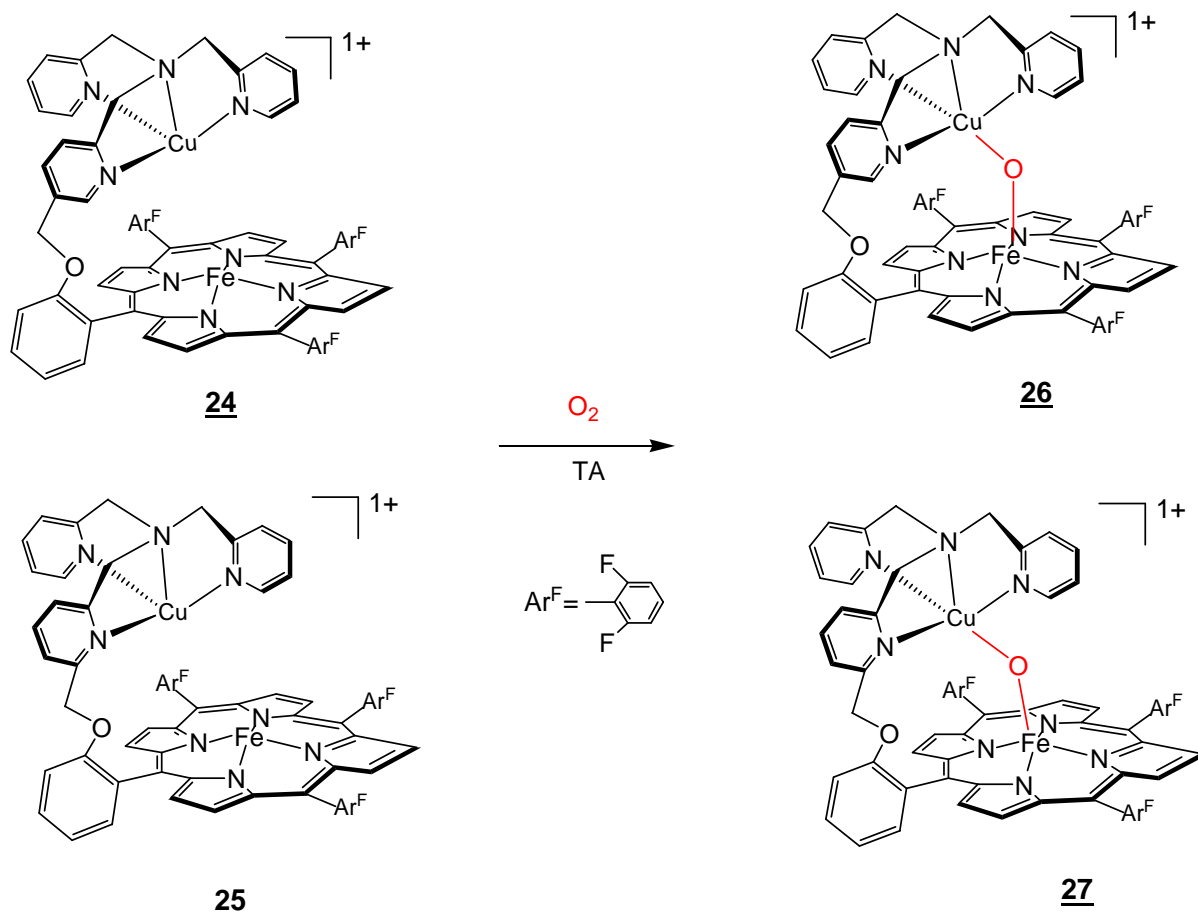


Figure 17 : modèles covalents de Karlin *et al.* avec un cuivre tétradentate.

Les auteurs ont montré que ces deux isomères de constitution réagissaient proprement à température ambiante avec le dioxygène pour donner les espèces μ -oxo **26** et **27** correspondantes ;⁴⁴ la structure aux rayons X de **27** a même été obtenue.⁴⁵ Lors des études physicochimiques à basse température, les auteurs ont observé une réactivité très différente par rapport au dioxygène. Ils ont montré que la réaction de **24** avec le dioxygène passait par un intermédiaire μ -peroxo, diamagnétique et de stœchiométrie 2 : 1 (O_2 : **23**). De la même façon, l'étude de l'oxygénation de **25** a révélé la présence de plusieurs adduits oxygénés qui se transforment en un seul adduit μ -peroxo paramagnétique, haut spin ($S_{\text{total}} = 2$) et de

⁴⁴ a) Obias, H. V. ; Van Strijdonck, G. P. F. ; Lee, D. H. ; Ralle, M. ; Blackburn, N. J. ; Karlin, K. D. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 9696.

b) Ghiladi, R. A. ; Huang, H. W. ; Moënné-Loccoz, P. ; Stasser, J. ; Blackburn, N. J. ; Woods, A. S. ; Cotter, R. J. ; Incarvito, C. D. ; Rheingold, A. L. ; Karlin, K. D. *J. Biol. Inorg. Chem.* **2005**, *10*, 63.

⁴⁵ Ju, D. T. ; Ghiladi, R. A. ; Lee, D. H. ; Van Strijdonck, G. F. P. ; Woods, A. S. ; Cotter, R. J. ; Young Jr. V. G. ; Karlin, K. D. *Inorg. Chem.* **1999**, *38*, 2244.

stoechiométrie 1 :1. Il faut noter qu'en milieu acide fort il y a une protonation de **27** et une rupture du pont μ -oxo de **26**.⁴⁶

Un autre complexe **28** avec un espaceur amide, dans lequel le cuivre est complexé par un ligand tridentate, a été synthétisé et étudié par l'équipe de Karlin (Figure 18).

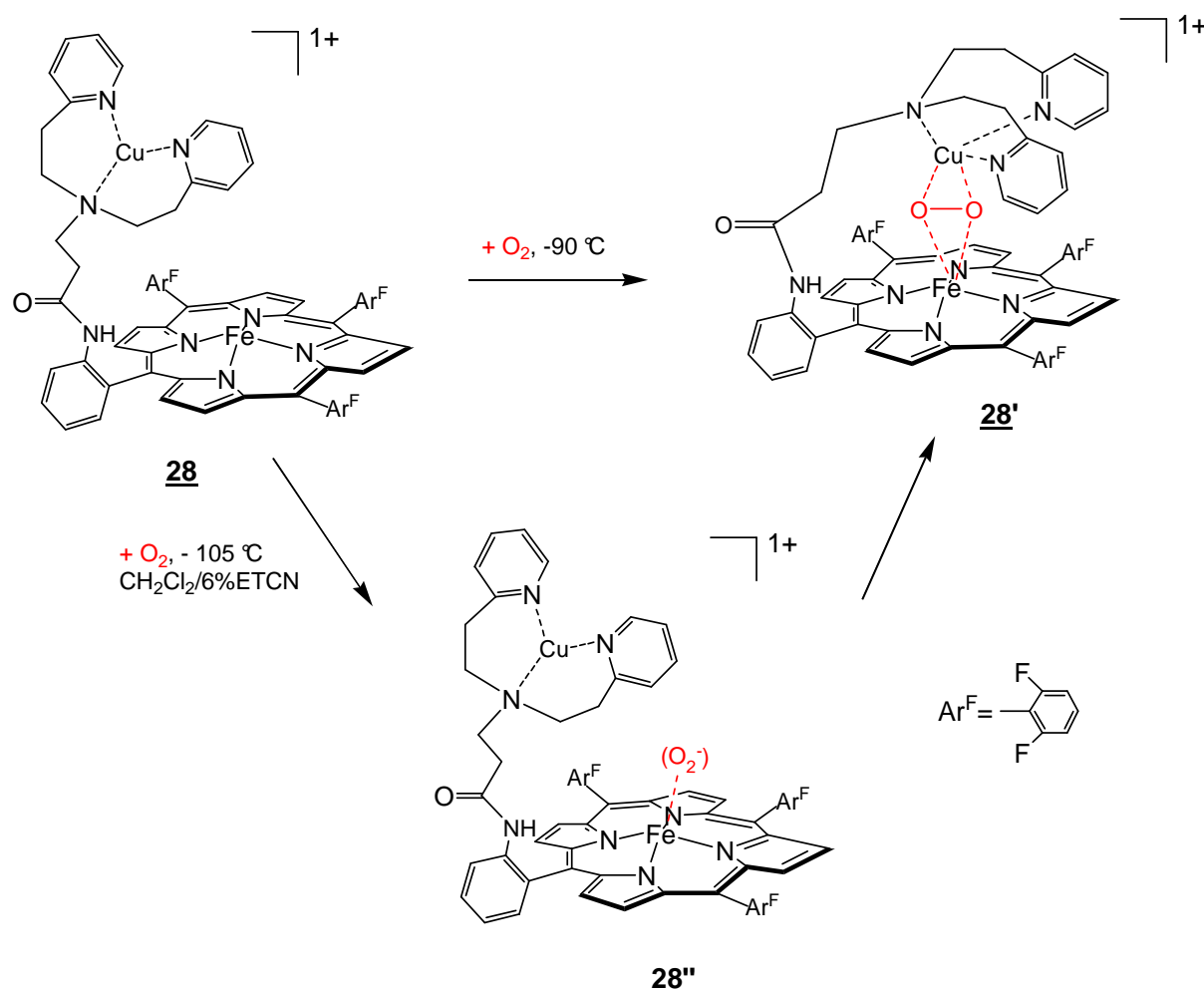


Figure 18 : modèle covalent de Karlin et al. avec un cuivre tridentate

Les études de la réactivité de **28** avec le dioxygène ont montré la formation de l'intermédiaire superoxo (**28''**) à $-105^\circ C$ et du produit μ - η^2 : η^2 -peroxo (**28'**) à $-90^\circ C$.⁴⁷ Ces résultats semblent confirmer la tendance observée par Karlin *et al.*, que le cuivre tridentate préfère une liaison μ - η^2 : η^2 -peroxo dans les réactions hème-cuivre avec le dioxygène.

⁴⁶ Ghiladi, R. A. ; Ju, T. D. ; Lee, D. H. ; Möenne-Loccoz, P. ; Kadreli, S. ; Neuhold, Y. M. ; Zuberbühler, A. D. ; Woods, A. S. ; Cotter, R. J. ; Karlin, K. D. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 9885.

⁴⁷ a) Kim, E. ; Shearer, J. ; Lu, S. ; Möenne-locco, P. ; Helton, M. E. ; Kaedeli, S. ; Zuberbühler, A. D. ; Karlin, K. D. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 12716.

b) Kim, E. ; Helton, M. E. ; Lu, S. ; Möenne-Loccoz, P. ; Incarvito, C. D. ; Rheingold, A. L. ; Kardeli, S. ; Zuberbühler, A. D. ; Kalin, K. D. *Inorg. Chem.* **2005**, *44*, 7014.

Au final, Karlin *et al.* ont montré l'influence drastique de l'architecture des ligands distaux sur les espèces hème-cuivre μ -peroxo.⁴⁸

Naruta *et al.* ont étudié des complexes binucléaires hème-cuivre dans une approche très similaire à celle développée par Karlin *et al.* Une série de trois complexes très semblables avec de petites variations structurales a été synthétisée.⁴⁹ Dans les trois complexes, les deux sites de coordination sont reliés par une fonction amide choisie pour sa flexibilité relative bien qu'elle limite la libre rotation (Figure 19).

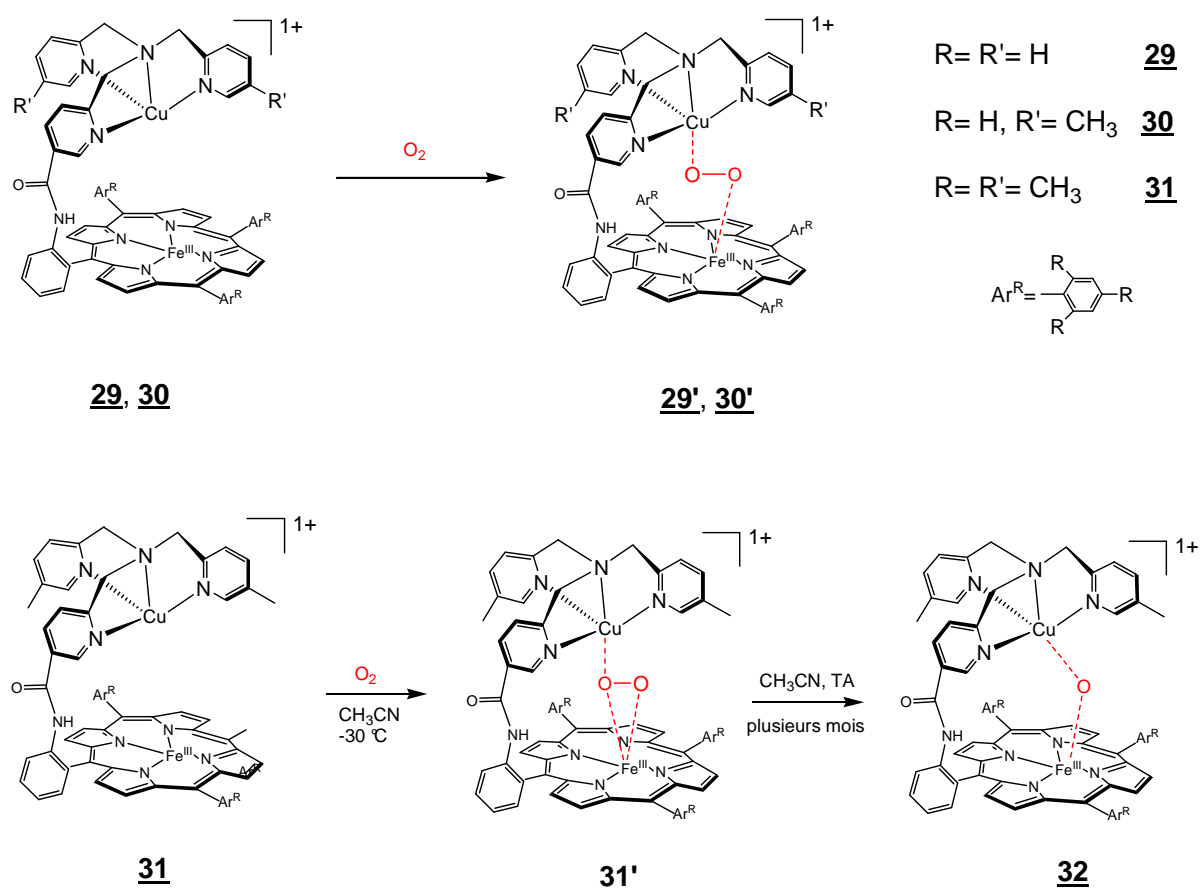


Figure 19 : série de modèle covalent de Naruta *et al.*

Les trois complexes **29**, **30** et **31** réagissent à l'état réduit avec le dioxygène pour donner des intermédiaires peroxo. La caractérisation des différents intermédiaires a été faite en utilisant plusieurs techniques spectroscopiques. L'analyse des données obtenues pour le complexe **29** et le complexe **30** a permis aux auteurs de proposer un intermédiaire μ -1,2-

⁴⁸ a) Chufan, E. E. ; Mondal, B. ; Ghandi, T. ; Kim, E. ; Rubie, N. D. ; Mœnne-Loccoz, P. ; Karlin, K. D. *Inorg. Chem.* **2007**, *46*, 6382.

b) Chufan, E. E. ; Puiu, S. C. ; Karlin, K. D. *Acc. Chem. Res.* **2007**, *40*, 563.

⁴⁹ Sasaski, T. ; Nakamura, N. ; Naruta, Y. *Chem. Lett.* **1998**, 351.

peroxo « end-on » pour les deux composés. Dans ce cas l'effet stérique du groupement méthyle ne perturbe pas la structure peroxo.⁵⁰

Dans le cas du complexe **31**, trois groupements mésityles sont introduits sur le cycle porphyrinique, s'ajoutant ainsi à l'encombrement stérique dû aux deux méthyles sur le ligand du cuivre. Cet encombrement a pour effet d'augmenter la stabilité thermique de l'intermédiaire **31'** comparé aux intermédiaires **29'** et **30'** précédents (Figure 19). L'intermédiaire **31'** a pu être cristallisé à - 30°C et sa structure aux rayons X a révélé une coordination de type $\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^1\text{-peroxo}$ « side-on » pour le fer et « end-on » pour le cuivre. C'est la première structure cristallographique dans laquelle une porphyrine de fer est liée à un ligand peroxo « side-on »,⁵¹ comme on le voit sur la figure ci-dessous.

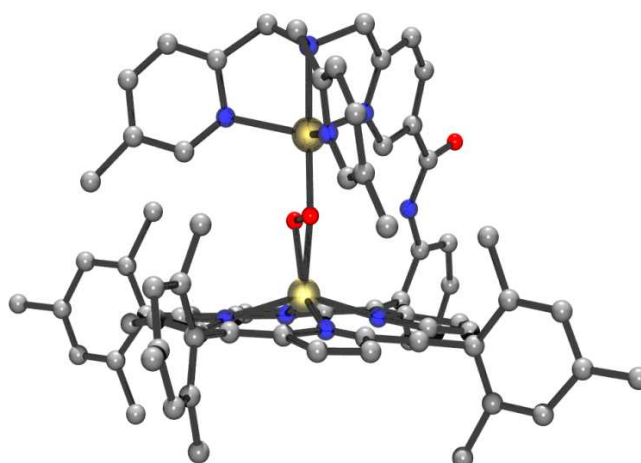


Figure 20 : première structure hème-peroxo-cuivre de Naruta *et al.* (CCDC 205246 représenté avec Ortep et POV-Ray)

Naruta *et al.* ont aussi pu générer **31'** en faisant réagir la forme $\mu\text{-oxo}$ (**32**) avec de l'eau oxygénée.⁵² Cette réaction d'échange de ligand entre la forme peroxo et la forme oxo en présence d'eau oxygénée montre bien la préférence de la forme peroxo par le complexe.

Plus récemment, le modèle **31** a subi quelques petites modifications dans sa partie distale. Les deux nouveaux modèles ainsi obtenus comportent chacun deux imidazoles dont l'un est couplé avec un phénol pour mimer la tyrosine 244. Dans l'un des nouveaux modèles le cuivre est coordonné par un ligand tétradentate (**33**) et dans l'autre par un ligand tridentate (**34**) comme l'illustre la Figure 21.⁵³

⁵⁰ Naruta, Y. ; Sasaki, T. ; Tani, F. ; Tachi, Y. ; Kawato, N. ; Nakamura, N. *J. Inorg. Biochem.* **2001**, *83*, 239.

⁵¹ Chishiro, T. ; Shimazaki, Y. ; Tani, F. ; Tachi, Y. ; Naruta, Y. ; Karasawa, S. ; Hayami, S. ; Maeda, Y. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 2788.

⁵² Chishiro, T. ; Shimazaki, Y. ; Tani, F. ; Naruta, Y. *Chem. Commun.* **2005**, 1079.

⁵³ Liu, J. G. ; Naruta, Y. ; Tani, F. ; Chishiro, T. ; Tachi, Y. *Chem. Commun.* **2004**, 120.

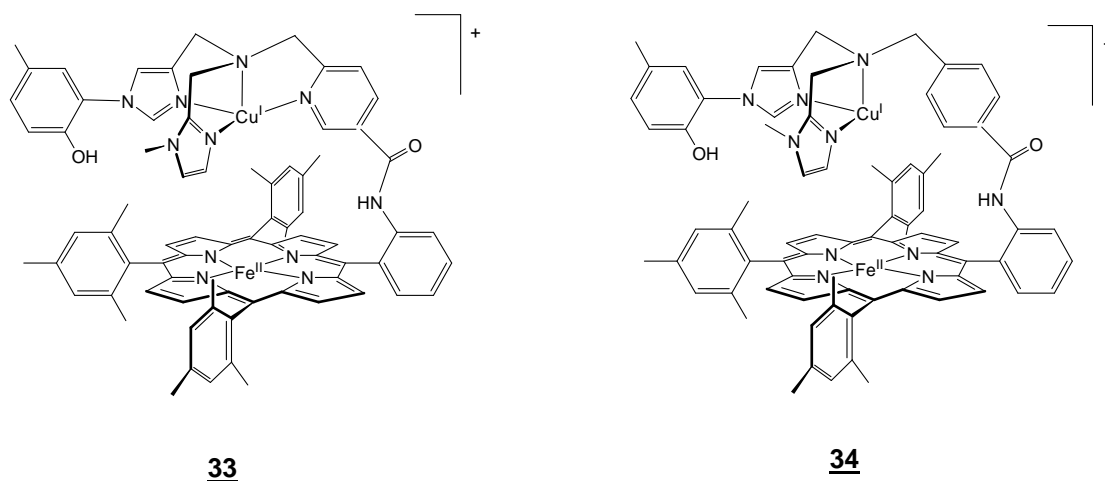


Figure 21 : modèles biomimétiques covalents de Naruta *et al.*

L'oxygénation, à basse température, des complexes **33** et **34**⁵⁴ a été suivie au moyen de plusieurs spectroscopies parmi lesquelles, UV-Visible, résonance Raman, spectrométrie de masse et RPE. La réaction du complexe **33** avec le dioxygène à - 30 °C dans l'acétonitrile et dans d'autres solvants a montré la formation d'un adduit μ -peroxo stable.

Par contre dans les mêmes conditions, la coexistence d'un adduit hème superoxyde et d'un adduit μ -peroxo dans les mêmes proportions a été observée pour le complexe **34**. Cette différence de réactivité entre le complexe **33** et le complexe **34** est due à la faible oxydabilité du cuivre(I) tridentate par rapport au cuivre(I) tétradentate. Ce phénomène a été aussi observé par Collman *et al.* en électrocatalyse pour les modèles **3** et **4**.

Karlin *et al.* et Naruta *et al.* ont aussi développé des systèmes binucléaires superstructurés possédant une base axiale liée de manière covalente à la porphyrine.

Dans le système développé par Karlin *et al.*, le site tridentate de complexation du cuivre et la base axiale de type pyridine sont liés à la porphyrine de fer par des fonctions amides (Figure 22).

⁵⁴ Liu, J. G. ; Naruta, Y. ; Tani, F. *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 6365.

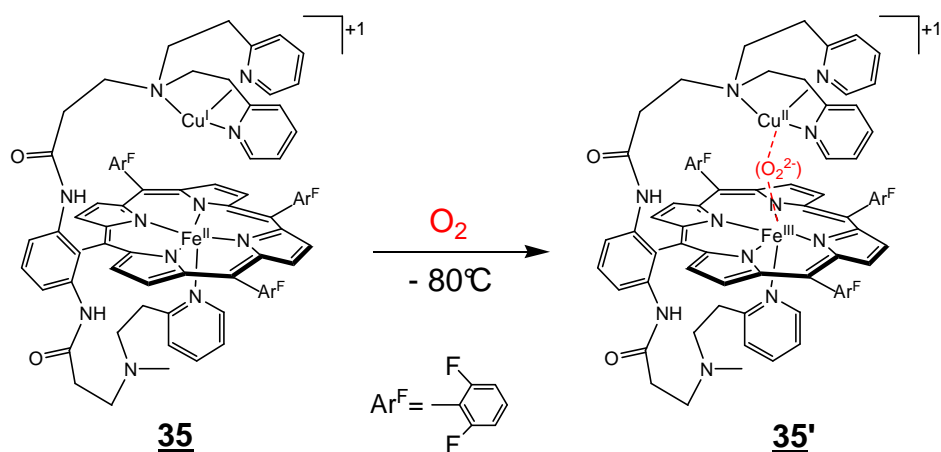


Figure 22 : modèle covalent avec une base axiale embarquée de Karlin *et al.*

Le complexe **35** réagit irréversiblement avec le dioxygène pour former à basse température un adduit peroxyo **35'** diamagnétique, de stœchiométrie 1:1, caractérisé par plusieurs études spectroscopiques.⁵⁵ Cet adduit présente beaucoup d'analogies avec l'adduit **1'** de Collman *et al.*²⁵

Dans un effort analogue, Naruta *et al.* ont développé un modèle fonctionnel reproduisant plus fidèlement le site actif de la cytochrome c oxydase. Dans le complexe **36**, la base axiale est de type imidazole avec un site distal contenant deux molécules d'imidazoles. Une des molécules d'imidazole est liée de manière covalente à une molécule de phénol, mimant ainsi la tyrosine 244 (Figure 23).

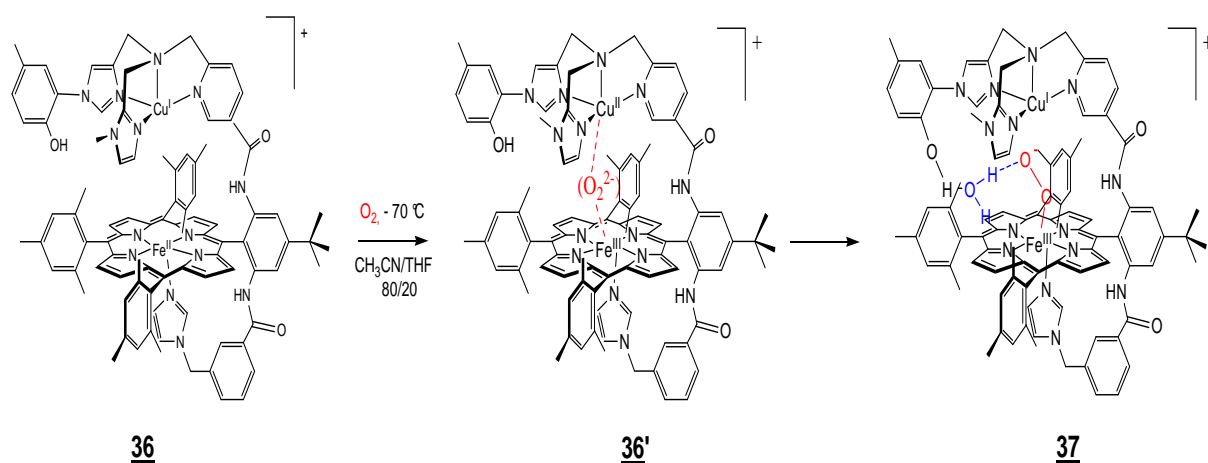


Figure 23 : réaction d'oxygénation avec un modèle de Naruta *et al.*

⁵⁵ Kopf, M. A. ; Karlin, K. D. *Inorg. Chem.* **1999**, 38, 4922.

L'oxygénation du complexe **36** à basse température a été suivie par plusieurs spectroscopies. Les auteurs ont ainsi montré que l'adduit **37** résultait de la dégradation de l'adduit **36'** qui a une durée de demi-vie de 30 minutes à - 70 °C. L'adduit **36'** est observable entre - 70 et - 30 °C. Il présente beaucoup de similitudes avec l'intermédiaire **A** du cycle catalytique de la cytochrome *c* oxydase.⁵⁶ Cette réaction est, à notre connaissance, la seule oxygénation à basse température dans laquelle un intermédiaire hème- μ -peroxo-cuivre(II) se transforme en un intermédiaire hème-superoxo-cuivre(I).

III.3.3 Vers des modèles fonctionnels plus avancés

Afin de mimer la structure protéique autour de l'hème et de contrôler le flux d'électron pendant l'électrocatalyse, certains modèles notamment ceux développés par Collman *et al.* ont subi des changements structuraux ou ont été incorporés dans des matrices.

III.3.3.1 Mime de la structure protéique

Pour essayer de reproduire le milieu confiné du site de cytochrome *c* oxydase, Collman *et al.* ont synthétisé et étudié trois copolymères artificiels d'une porphyrine de fer,⁵⁷ modèle de cytochrome *c* oxydase. Cette étude préliminaire a surtout permis aux auteurs de mettre en évidence l'influence importante du microenvironnement de la porphyrine sur la sélectivité et les propriétés catalytiques de ces trois copolymères porphyriniques.

III.3.3.2 Contrôle du flux d'électron

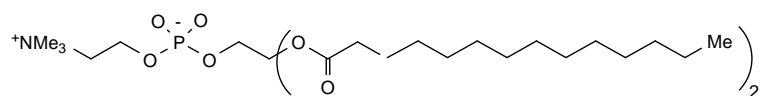
Il est clair que la différence principale entre l'activité électrocatalytique de modèles de cytochrome *c* oxydase adsorbés sur une électrode et l'activité biologique de la protéine membranaire réside dans la vitesse à laquelle les électrons sont délivrés au catalyseur. Tandis que les électrons sont instantanément disponibles en grand excès à la surface de l'électrode, le système biologique impose que les électrons soient délivrés un par un à partir du cytochrome *c* d'où ils sont dirigés vers le site actif par deux complexes (Cu_A, hème-*a*₃).

Pour contrôler le flux d'électron pendant l'électrocatalyse, Collman *et al.* ont incorporé les modèles fonctionnels **13**, **14**, **15**, dans une matrice 1,2-dimyristoyl-L- α -

⁵⁶ Liu, J. G. ; Naruta, Y. ; Tani, F. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 1836.

⁵⁷ Collman, J. P. ; Fudickar, W. ; Shiryayeva, I. *Inorg. Chem.* **2003**, *42*, 3384.

phosphatidylcholine (PC), qui est l'un des constituants majoritaires de la membrane mitochondriale.



1,2-Dimyristoyl-L- α -phosphatidylcholine (PC)

Dans ces conditions, les auteurs ont montré que le système hème-cuivre réduisait efficacement le dioxygène sans production d'espèces partiellement réduites d'oxygène tandis que le modèle fer seul subissait une dégradation rapide⁵⁸ comme dans le système naturel.⁵⁹

Une approche similaire a permis aux mêmes auteurs d'étudier l'apport d'électrons sur la sélectivité de la réduction électrocatalytique de modèles fonctionnels sans cuivre. Pour y arriver, ils ont incorporé le complexe **14** sans cuivre (**38**) dans du Nafion. En effet, dans le Nafion, contrairement au film PC, les électrons sont moins mobiles. Pour assurer et réguler leur mobilité Collman *et al.* ont utilisé un transporteur d'électron comme $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$, qui très mobile dans le système **38**/Nafion. Quand il est adsorbé directement sur l'électrode, **38** catalyse très sélectivement la réduction du dioxygène en eau.³⁶ A l'inverse, lorsque le système **38**/Nafion est adsorbé sur l'électrode l'activité catalytique est modulée par la quantité de transporteur $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$ présent. En absence de $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$, ils ont observé une faible activité catalytique ; une activité catalytique comparable au modèle **38** adsorbé seul sur l'électrode est atteinte lorsqu'ils ont trois fois plus de $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$ que de catalyseur dans le film.⁶⁰

Au final, cette étude montre comment une porphyrine de fer seul qui réduit très sélectivement le dioxygène en eau quand elle est adsorbée sur l'électrode, perd sa sélectivité lorsque le flux d'électron est délivré comme dans le système biologique.

Dans une approche très nouvelle, Collman *et al.* ont développé une méthode générale pour préparer des modèles d'hémoprotéines portant une fonction alcyne dans le but de les immobiliser sur une surface par le biais de cyclisation d'Huisgen, dans des conditions mises au point par Sharpless.⁶¹ L'efficacité de cette réaction, particulièrement pour la

⁵⁸ Collman, J. P. ; Boulatov, R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 3487.

⁵⁹ Sigman, J. A. ; Kim, H. K. ; Zhao, X. ; Carey, J. R. ; Lu, Y. *PNAS*, **2003**, *100*, 3629.

⁶⁰ Collman, J. P. ; Shiryaeva, I. M. ; Boulatov, R. *Inorg. Chem.* **2003**, *42*, 4807.

⁶¹ Kolb, H. C. ; Finn, M. G. ; Sharpless, K. B. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004.

fonctionnalisation de la surface d'électrode, a été démontrée par le rattachement de manière covalente de modèles de cytochrome c oxydase. Pour ce faire, les auteurs ont incorporé une fonction alcyne terminale sur la position cinq de l'imidazole de la base axiale. L'alcyne est ensuite attachée de manière covalente à une fonction azide rattachée à un film « SAM » (self assembled monolayer), déposé sur une électrode d'or, par une réaction de cycloaddition catalysée par du cuivre(I) pour obtenir les deux modèles de la Figure 24.⁶²

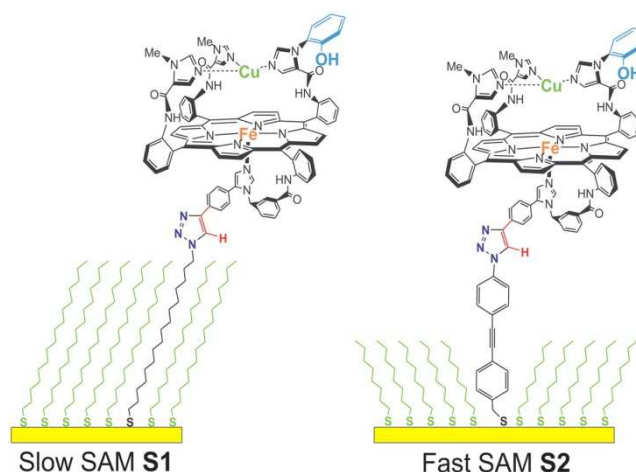


Figure 24 : deux modèles de Collman *et al.* fixés sur une surface d'or⁶³

Le comportement sur la surface S2 (transfert d'électron rapide) est comparable aux résultats obtenus précédemment avec les modèles adsorbés directement sur l'électrode. Néanmoins, les modèles ont gagné de la sélectivité suivant la complexité du modèle dans l'ordre suivant fer seul < fer-cuivre < fer-cuivre-phénol.

Cependant, dans le cas de la surface S1 (transfert d'électron lent) qui ne contient que des liaisons aliphatiques thiolates, d'importantes modifications ont été observées. Une sélectivité de plus 96% a été trouvée pour le modèle fer-cuivre-phénol tandis que le modèle fer seul se dégradait.⁶³ Ces résultats obtenus par Collman *et al.* montrent une fois de plus l'importance du cuivre et de la fonction tyrosine sur la réduction du dioxygène en eau par la cytochrome c oxydase.

Comme nous venons de le voir, il existe de nombreux modèles fonctionnels et structuraux de cytochrome c oxydase. Ces modèles possèdent généralement une architecture assez complexe. Comme souvent en chimie de synthèse, la sophistication des structures est

⁶² Décreau, R. A. ; Collman, J. P. ; Yang, Y. ; Yan, Y. ; Devaraj, N. K. *J. Org. Chem.* **2007**, 72, 2794.

⁶³ a) Collman, J. P. ; Devaraj, N. K. ; Décreau, R. A. ; Yang, Y. ; Yan, Y. ; Ebina, W. ; Eberspacher, T. A. ; Chidsey, C. E. D. *Science*, **2007**, 315, 1565. b) Collman, J. P. ; Décreau, R. A. *Chem. Commun.* **2008**, 5065.

inversement proportionnelle aux rendements globaux des synthèses. On remarquera également que le plus souvent, les modèles décrits laissent de nombreux degrés de liberté à la sphère de coordination du cuivre. L'examen de la structure du site actif de cytochrome *c* oxydase semble néanmoins révéler quelques contraintes géométriques avec un positionnement des imidazoles d'histidines plus strict que dans bien des modèles. On notera également que dans la plupart des exemples cités précédemment, la sélectivité lors de la métallation est quasi-inexistante entre le site ferrique et le site cuivrique.

On retiendra également une caractéristique assez récurrente des approches synthétiques qui sont, comme souvent dans le cas de modèles d'hémoprotéines, basées sur l'*ortho*-tétra-aminophényle porphyrine comme synthon de départ. En ce sens, cette porphyrine qui peut être obtenue dans des quantités de l'ordre de plusieurs grammes est un « modèle générique » d'hémoprotéines. Il peut être modifié et substitué de manières diverses afin de définir précisément une face distale et une face proximale.

Le travail décrit dans la suite du manuscrit concerne l'utilisation d'une porphyrine à anse phénanthroline, appelée **Porphen**, comme modèle générique d'hémoprotéines. En comparaison des approches basées sur la tétra-aminophényle porphyrine, la **Porphen** possède l'avantage d'inclure dans sa structure un site distal prédéfini, comme on peut le distinguer sur la figure ci-dessous.

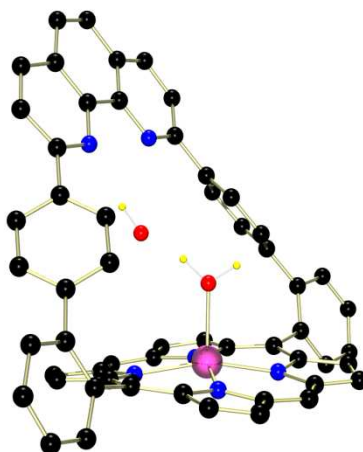


Figure 25 : structure cristallographique de la **Porphen** de zinc

Mettant à profit l'efficacité de synthèse de cette porphyrine superstructurée, des modèles de cytochrome *c* oxydase ont été déjà synthétisés et étudiés au laboratoire par Frédéric Melin durant sa thèse.⁶⁴ Ces complexes, formés à partir de la **Porphen** possèdent

⁶⁴ Melin, F. *Thèse ULP Strasbourg*, 2005.

deux sites de coordination très spécifique, l'un pour le cuivre et l'autre pour le fer. En raison d'une insolubilité forte en milieu organique, protique ou aprotique, les études physicochimiques praticables sur les modèles ont été restreintes. Cette première génération de modèles a néanmoins laissé entrevoir des perspectives électrocatalytiques intéressantes en réduction tétraélectronique de l'oxygène.⁶⁵ La catalyse de la réduction de l'oxygène moléculaire avec une nette préférence pour un mécanisme à quatre électrons a clairement été établie.⁶⁵ Cette constatation permet d'affirmer que la présence d'une anse phénanthroline qui semble favoriser le cuivre(I)⁶⁶ ne perturbe pas le fonctionnement du modèle.

Le chapitre suivant définit les objectifs de modifications structurales à introduire sur le squelette **Porphen**, ainsi que les approches synthétiques permettant de les atteindre.

⁶⁵ Melin, F. ; Boudon, C. ; Lo, M. ; Schenk, K. J. ; Bonin, M. ; Ochsenbein, P. Gross, M. ; Weiss, J. J. *Porphyrins Phthalocyanines* **2007**, 11, 212.

⁶⁶ Giraudeau, A. ; Gisselbrecht, J. P. ; Gross, M. ; Weiss ; J. *Chem. Commun.* **1993**, 1103.

CHAPITRE II :

Vers des modèles génériques d'hémoprotéines

Chapitre II: Vers des modèles génériques d'hémoprotéines

I Introduction

L'objectif de ce travail est le développement et l'optimisation structurale d'un modèle d'hémoprotéine à caractère générique, construit sur le squelette de la **Porphen**. L'expérience, acquise ces dernières années sur ces dérivés de porphyrines à anse phénanthroline au laboratoire, nous a conduit à choisir le motif de la Figure 26 comme cible synthétique.

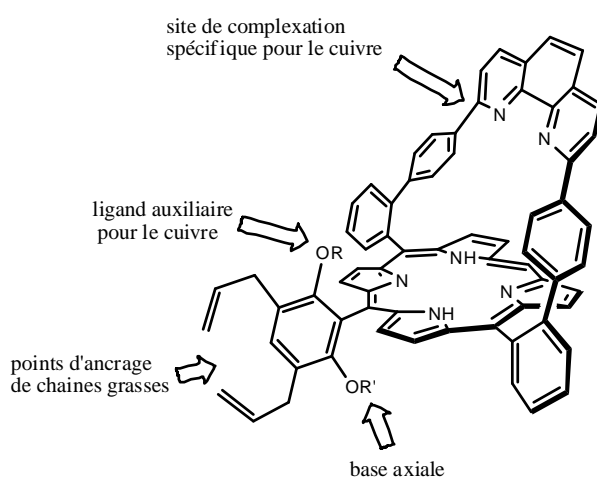


Figure 26 : motif de nos modèles

Comme indiqué en fin de chapitre précédent, la structure de la **Porphen** comprend déjà un site distal prédéfini. Ce site distal est, de plus, un site coordonnant pour le cuivre, ce qui est un avantage non négligeable dans le cas particulier de la modélisation de la cytochrome *c* oxydase. Les deux fonctions allyles de notre motif sont prévues pour greffer des chaînes alkyles qui permettraient en partie de résoudre des problèmes de solubilité inhérents à ces modèles. L'introduction de ces chaînes grasses est aussi prévue pour permettre l'incorporation de nos modèles dans des membranes artificielles reproduisant l'environnement protéique de la cytochrome *c* oxydase et le transfert lent d'électrons en surface d'une électrode. En cas d'échec de cette approche, les oléfines terminales pourraient être utilisées pour l'incorporation des modèles dans des polymères comme ceux développés par le groupe de G. Simmoneaux *et al.* avec des mimes de cytochrome P450.⁶⁷

⁶⁷ Ferrand, Y. ; Le Maux, P. ; Simonneaux, G. *Tetrahedron. Asym.* **2005**, *16*, 3829.

Afin de permettre au lecteur non spécialiste des porphyrines une bonne compréhension du manuscrit, quelques caractéristiques de ces macrocycles tétrapyrroliques sont présentées avant d'aborder les voies de synthèses de nos modèles. Elles sont destinées à permettre un suivi des caractérisations et des comportements spectroscopiques de nos modèles, principalement décrits dans le chapitre suivant.

II Généralités sur les porphyrines

Les propriétés structurales et physico-chimiques des porphyrines ont fait l'objet de très nombreuses études.⁶⁸ Nous rappelons rapidement ici leurs principales caractéristiques physico-chimiques.

II.1 Structure de base et nomenclature

Les porphyrines sont constituées de quatre unités pyrroliques reliées entre elles par des ponts méthines. Le macrocycle porphyrinique est un système aromatique de 22 électrons π dont 18 participent à l'aromaticité conformément à la règle de Hückel. Cette forte conjugaison est à l'origine de leur très grande stabilité et de leur forte absorption dans le visible. La forme tautomère pour laquelle les deux NH pyrroliques internes sont en position trans est la forme la plus favorable thermodynamiquement. En outre, en fonction du pH, les porphyrines se comportent comme des diacides ou des dibases et peuvent former des complexes avec presque tous les métaux du tableau de la classification périodique. Ainsi, les porphyrines métallées sont appelées métalloporphyrines et porphyrines bases libres dans le cas contraire. Trois types principaux d'atomes de carbone peuvent être distingués dans ces molécules, que l'on note respectivement α , β et *meso*. Nous avons représenté sur la Figure 27 la plus simple des porphyrines appelée porphine et les atomes de carbone ont été numérotés suivant la nomenclature de l'IUPAC.

⁶⁸ Kadish, K. M. ; Smith, K. M. ; Guillard, R. *Porphyrim Handbook* 2000, Academic Press.

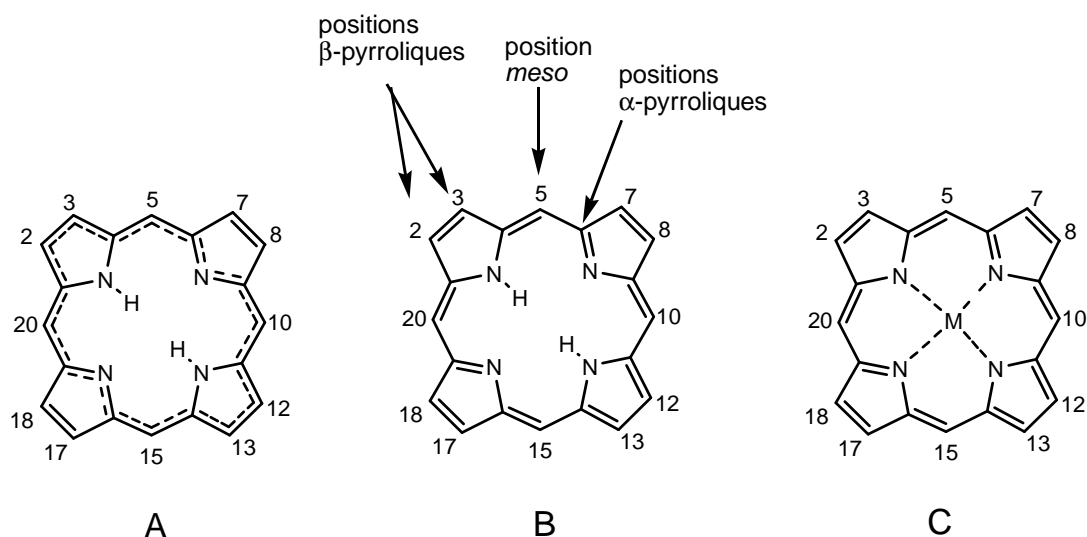


Figure 27 : A-Electrons impliqués dans l'aromaticité ; B-Porphine base libre ; C-Métalloporphine

Les porphyrines peuvent être classées selon les substituants portés par les atomes de carbone β ou *meso* et par la nature du métal complexé par le macrocycle. Deux exemples classiques de métalloporphyrines substituées sont représentés sur la Figure 28. La première est substituée en positions *meso* (**Meso tétraphénylporphyrine** de zinc), et la deuxième en positions β -pyrroliques (**Octaéthylporphyrine** de zinc).

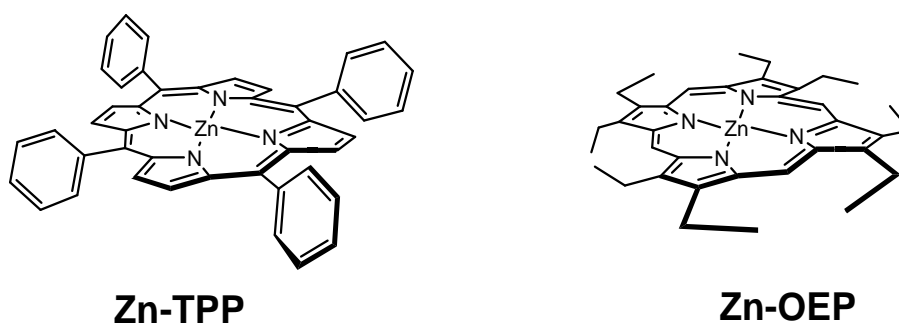


Figure 28 : deux exemples classiques de métalloporphyrines

II.2 Géométrie du cycle

Le macrocycle porphyrinique de géométrie plane est relativement flexible. La substitution par des groupements volumineux en position *meso* et/ou en β , la métallation, la protonation des deux azotes, ou la présence de ligands axiaux, sont autant de facteurs qui

peuvent entraîner la distorsion du macrocycle porphyrinique.⁶⁹ Des études structurales en phase solide ont mis en évidence l'existence de différentes conformations possibles pour ce macrocycle (Figure 29).⁷⁰

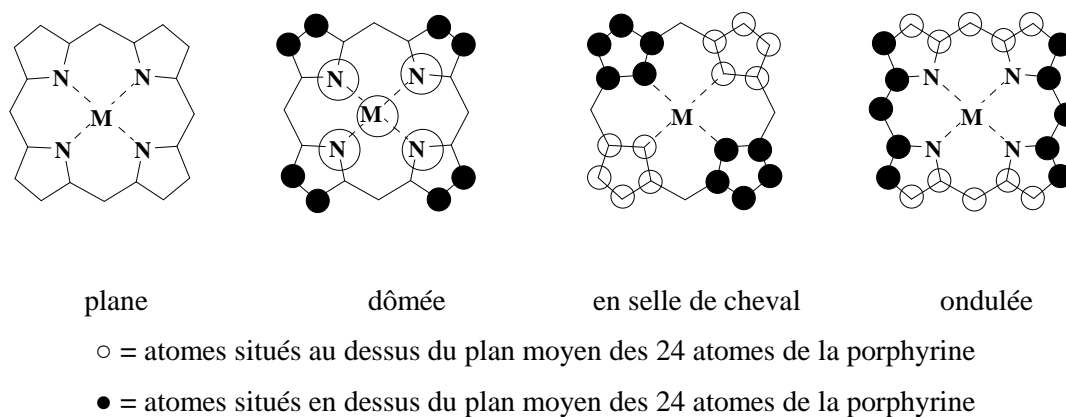


Figure 29 : conformations possibles des porphyrines

II.3 Caractéristiques spectrales

Comme nous l'avons souligné, en raison de leur aromaticité étendue, les porphyrines absorbent dans le visible et sont fortement colorées. Les porphyrines bases libres sont caractérisées par la présence de cinq bandes d'absorption, quatre bandes dites bandes Q, responsables de la couleur des porphyrines se situent dans la fenêtre spectrale entre 480 et 700 nm et une bande appelée bande de Soret ou bande B, très intense ($\epsilon > 10^5 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$) située entre 380 et 450 nm. Elle est caractéristique de l'aromaticité de la molécule et est peu influencée par les modifications de celle-ci.

Les bandes Q en revanche y sont très sensibles et varient suivant la nature et la position des substituants fixés sur la porphyrine. Dans le cas des porphyrines métallées ou protonées, le nombre de bandes Q se réduit à deux.

L'énergie et l'intensité de ces bandes dépendent des substituants de la porphyrine, du métal, des ligands additionnels sur le métal, des déformations du macrocycle, du solvant et des interactions entre chromophores dans les édifices multi-porphyriniques. Quelques

⁶⁹ a) Cullen, D. L. ; Meyer, E. F. Jr. ; Smith, K. M. *Inorg. Chem.* **1977**, 16, 1179.

b) Guillard, R. ; Lecomte, C. ; Kadish, K. M. *In Structure and Bonding* **1987**, 205.

⁷⁰ Scheidt, W. R. ; Lee, Y. J. *In Structure and bonding*, **1987**, 64, 1.

exemples de spectres sont donnés dans la Figure 30. Les bandes ont été nommées en utilisant la nomenclature de Platt-Gouterman.⁷¹

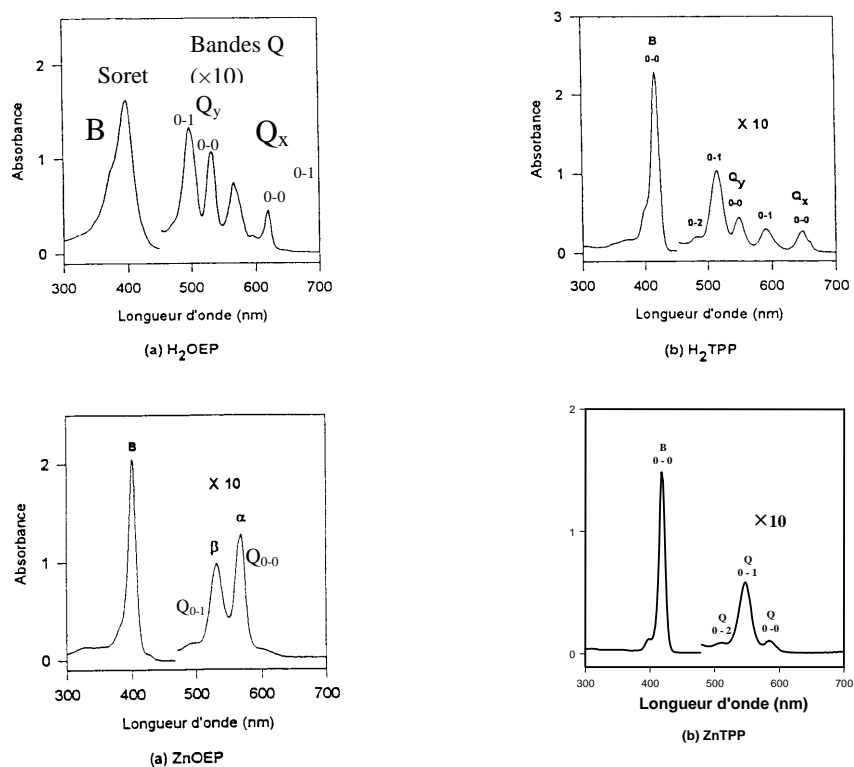


Figure 30 : spectres UV-Visible de quelques porphyrines courantes

Ces différentes bandes d'absorption peuvent être interprétées en faisant appel au « modèle à quatre orbitales » de Gouterman.⁷² Ces quatre orbitales frontières π (2 LUMO et 2 HOMO) sont représentées ci-dessous, dans le cas d'une porphyrine très symétrique (axes x et y équivalents, symétrie D_{4h}).

⁷¹ Gouterman, M. J. *Chem. Phys.* **1959**, 30, 1939.

⁷² Gouterman, M. J. *J Mol. Spectroscopy* **1961**, 6, 138.

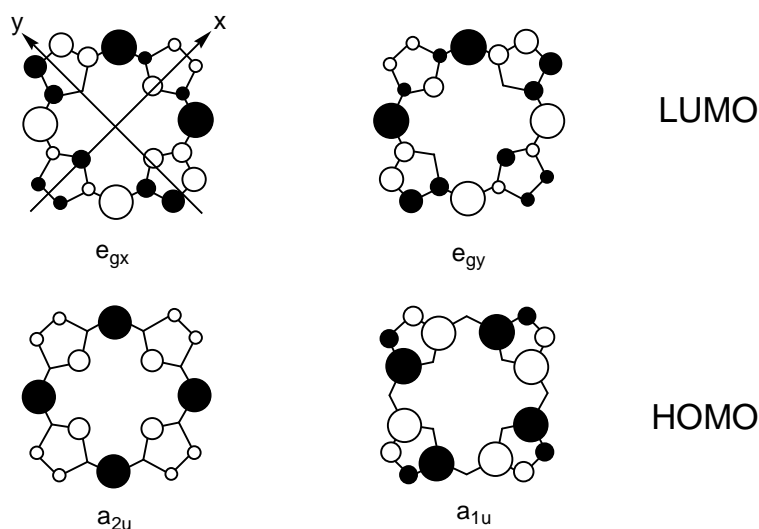


Figure 31 : orbitales frontières des porphyrines

De manière générale l'ordre énergétique de ces orbitales dépend des substituants des positions *meso* ou β -pyrroliques de la porphyrine. Dans le cas d'une métalloporphyrine symétrique (symétrie D_{4h} comme la **Zn-TPP**), les deux LUMO e_{gx} et e_{gy} sont dégénérées. Pour des porphyrines substituées en position *meso* par des groupes phényles ou alkyles, la HOMO a_{2u} est généralement plus haute en énergie que l'orbitale a_{1u} .

La bande de Soret correspond à une transition permise entre l'état fondamental et le deuxième état excité singulet de la porphyrine. Dans ce cas il y a donc promotion d'un électron de l'orbitale a_{1u} vers les orbitales e_g .

Les bandes Q correspondent à des transitions interdites entre l'état fondamental et le premier état excité singulet. Dans ce cas, il y a promotion d'un électron de l'orbitale a_{2u} vers les orbitales e_g . Cette transition électronique s'accompagne en général d'une structure vibrationnelle. Pour une porphyrine de symétrie D_{4h} , les deux bandes Q observées correspondent aux deux transitions vibrationnelles 0-0 et 0-1. Dans le cas d'une porphyrine moins symétrique pour laquelle les deux axes x et y ne sont plus équivalents (par exemple une porphyrine base libre de symétrie D_{2h}), la bande Q est dédoublée en deux bandes Q_x et Q_y possédant chacune sa structure vibrationnelle 0-0 et 0-1. On observe donc quatre bandes en tout.

II.4 Spectroscopie RMN du proton

En raison de leur forte aromaticité, les porphyrines, comme tous les composés aromatiques, possèdent un courant de cycle important.

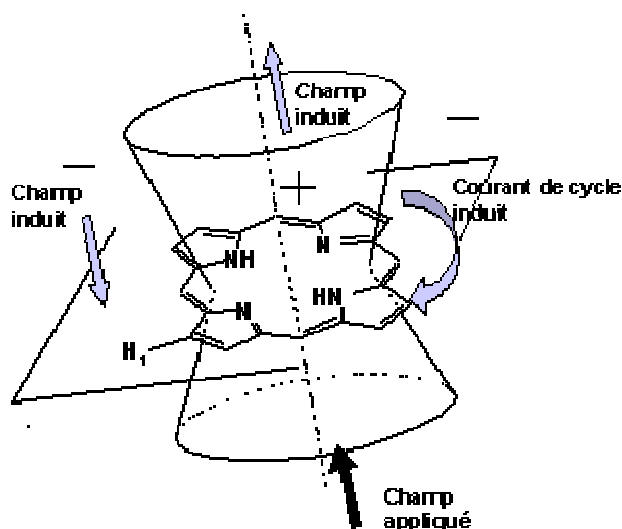


Figure 32 : cône d'anisotropie magnétique d'une porphyrine.

Ainsi, le courant de cycle induit, lorsque le macrocycle porphyrinique est placé dans un champ magnétique imposé par l'appareil, génère un cône d'anisotropie magnétique (Figure 32). Il en résulte que tous les protons situés sur la périphérie sont déblindés et les protons internes comme les NH sont fortement blindés.⁷³

III Synthèse de porphyrines à anse phénanthroline multifonctionnelles modulables

III.1 La porphyrine à anse phénanthroline (Porphen)

La porphyrine à anse phénanthroline appelée **Porphen** a été conçue comme modèle de cytochrome *c* oxydase au laboratoire par J. A. Wytko, E. Graf, et J. Weiss.⁷⁴ Elle est obtenue par condensation acido-catalysée en milieu fortement dilué entre un dialdéhyde construit sur la 2,9-bis(*p*-bromophenyl)-phénanthroline⁷⁵ et le dipyrrométhane⁷⁶ selon le schéma réactionnel de la Figure 33.

⁷³ NMR and EPR ; Kadish, K. M. ; Smith, K. M. ; Guillard, R. *Porphyrin Handbook*, **2000**, 5, 1-80, Academic Press.

⁷⁴ Wytko, J. A. ; Graf, E. ; Weiss, *J. Org. Chem.* **1992**, 57, 1015.

⁷⁵ a) Noblat, S. ; Dietrich-Buchecker, C. O. ; Sauvage, J. P. *Tetrahedron Lett.* **1987**, 28, 5829.

b) Dietrich-Buchecker, C. O. ; Marnot, P. A. ; Sauvage, J. P. *Tetrahedron Lett.* **1982**, 23, 5291.

⁷⁶ Wang, Q. M. ; Bruce, W. D. *Synlett.* **1995**, 12, 1267.

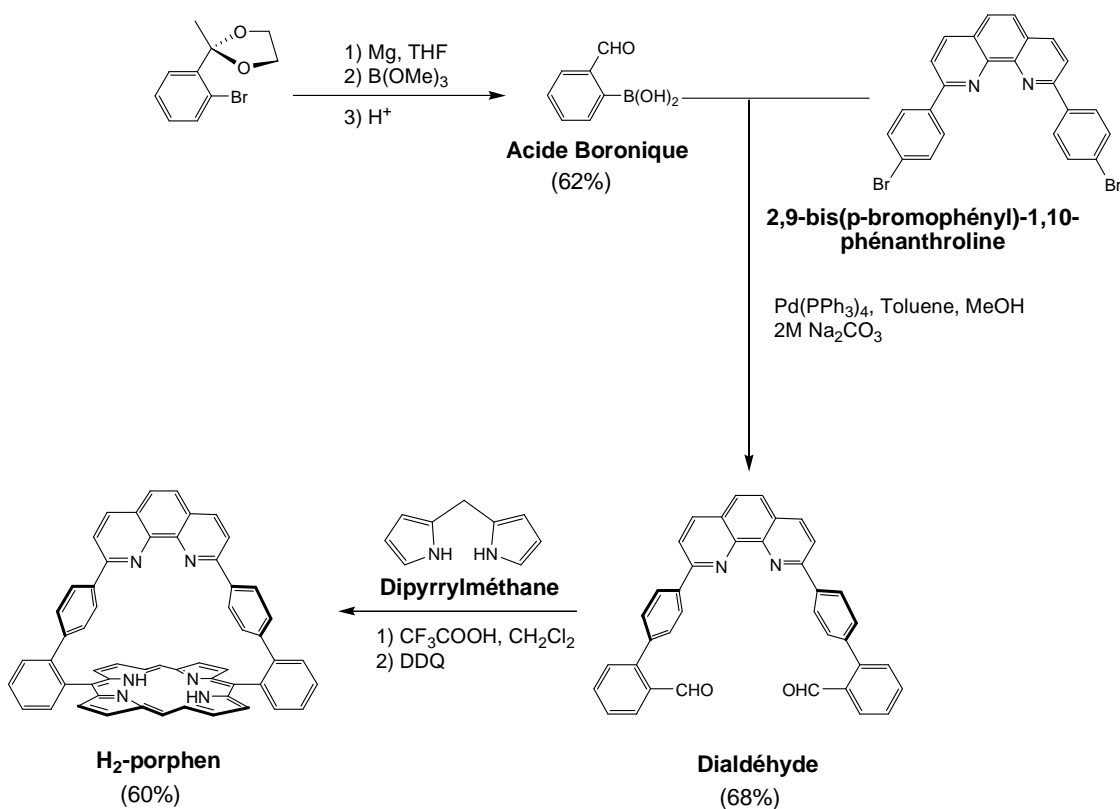


Figure 33 : synthèse de la Porphen

Le rendement de condensation peut atteindre jusqu'à 70%, ce qui est exceptionnel pour une porphyrine superstructurée de ce type et permet d'obtenir ce composé à grande échelle (plusieurs grammes en quelques semaines).

Bien que les structures à l'état solide montrent que l'anse de la **Porphen** est faiblement inclinée (angle dièdre proche 65°) par rapport au plan de la porphyrine, aucune dissymétrie n'est observée en solution notamment en RMN. La distance entre le centroïde des quatre atomes d'azotes et le centroïde des deux atomes d'azotes de la phénanthroline est d'environ 6,62 Å. La distance entre deux métaux coordonnés respectivement par la porphyrine et la phénanthroline est considérablement plus courte (5 Å) comme le montre la structure du composé zinc-cuivre représenté ci-dessous. Elle est donc bien dans la gamme des distances métal-métal du site actif de cytochrome c oxydase (4,4 - 5,3 Å).

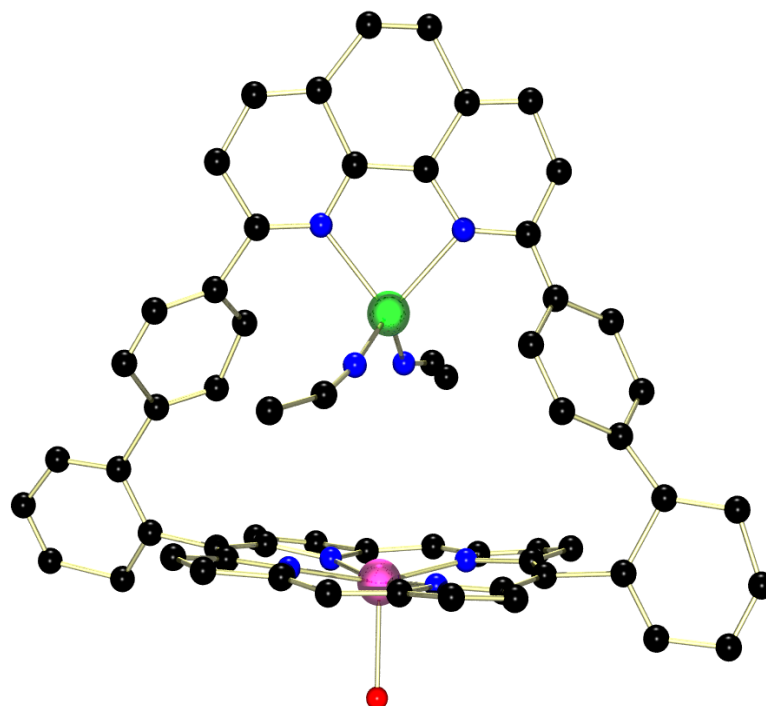


Figure 34 : structure du complexe bimétallique [Zn(II)-**Porphen**-Cu(I)(CH₃CN)₂]BF₄⁷⁷

L'étude de la réactivité de la **Porphen** zinguée avec des dérivés de l'imidazole comme base exogène a donné des résultats inattendus. Avec des imidazoles non N-substitués la coordination se fait sélectivement sur la face la plus encombrée, donc à l'intérieur de l'anse. A l'inverse, les imidazoles N-substitués se coordinent sur la face non encombrée. Cette sélectivité, s'explique par le développement d'une liaison hydrogène bifurquée entre le proton porté par l'azote de l'imidazole et les deux azotes de la phénanthroline.⁷⁸

III.2 Stratégies synthétiques possibles

Bien que la **Porphen** soit accessible dans des quantités appréciables de l'ordre de quelques grammes, les choix stratégiques initiaux ont été guidés par l'option faisant intervenir la structure porphyrinique dans le moins d'étapes de synthèse possible. Les options stratégiques ci-dessous sont présentées dans un ordre de préférence suivant ce critère :

⁷⁷ Froidevaux, J. ; *Thèse ULP Strasbourg, 1998.*

⁷⁸ Froidevaux, J. ; Ochsenbein, P. ; Bonin, M. ; Schenk, K. ; Maltese, P. ; Gisselbrecht, J.-P. ; Weiss, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 12362.

Stratégie 1 : couplage d'acides boroniques fonctionnalisés sur une *meso*-bromo Porphen

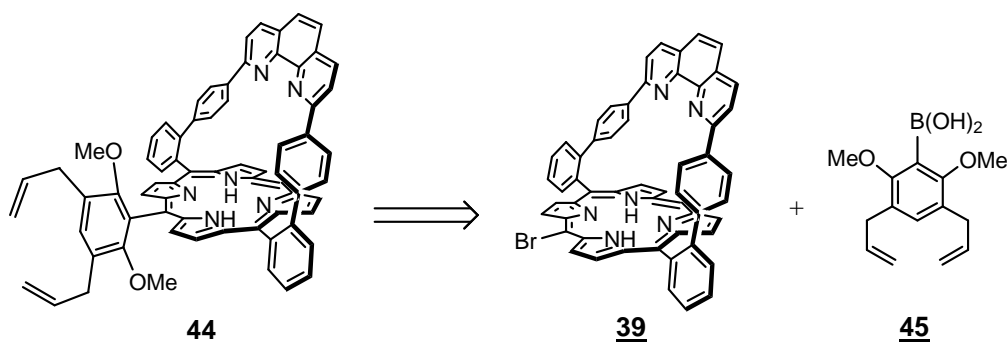


Figure 35 : schéma rétrosynthétique de **44**

Stratégie 2 : fonctionnalisations successives d'un résorcinol couplé à une Porphen

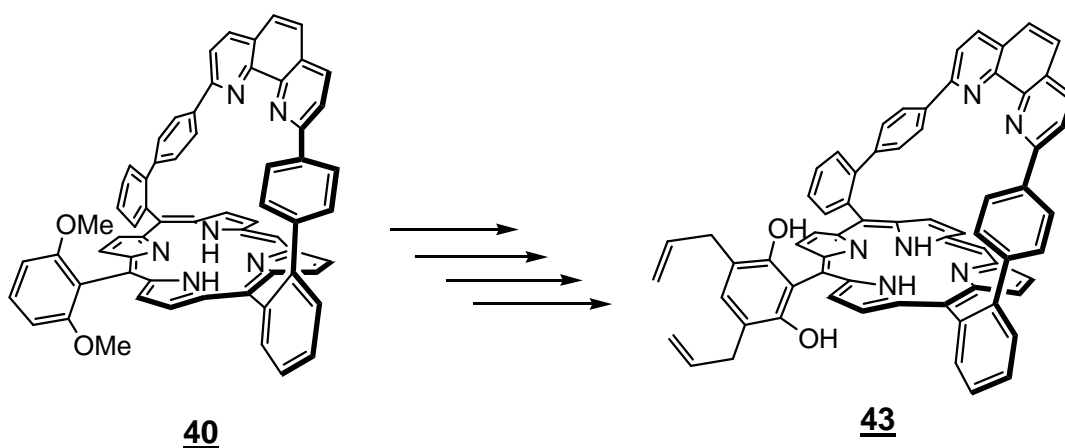


Figure 36 : schéma de synthèse du composé **43** à partir de la méso (2,6-diméthoxyphényl)Porphen

III.2.1 Greffage de résorcinols fonctionnalisés (stratégie 1)

Le schéma rétrosynthétique de cette voie est décrit sur la Figure 35 ci-dessus. Le composé **39** doit permettre *via* un couplage de type Suzuki avec le composé **45** suivi par un clivage des fonctions éthers de méthyle d'obtenir le composé **43**. Cette voie de synthèse doit nous permettre d'obtenir le composé **43** sur des proportions plus importantes en diminuant le nombre d'étapes dans lesquelles intervient la porphyrine. Chaque produit de départ **39** et **45** peut être obtenu à l'échelle de plusieurs grammes.

Dans cette nouvelle voie, la synthèse de **43** comporte deux démarches convergentes. La première correspond aux différentes étapes permettant d'obtenir la porphyrine superstructurée **Porphen** (Figure 33) et le composé bromé **39** (Figure 39).

La seconde partie correspond à la synthèse du composé **45** (Figure 37). Cette synthèse se déroule en quatre étapes à partir du 2-bromorésorcinol **49** dont la synthèse à partir du résorcinol a été décrite dans la littérature.⁷⁹

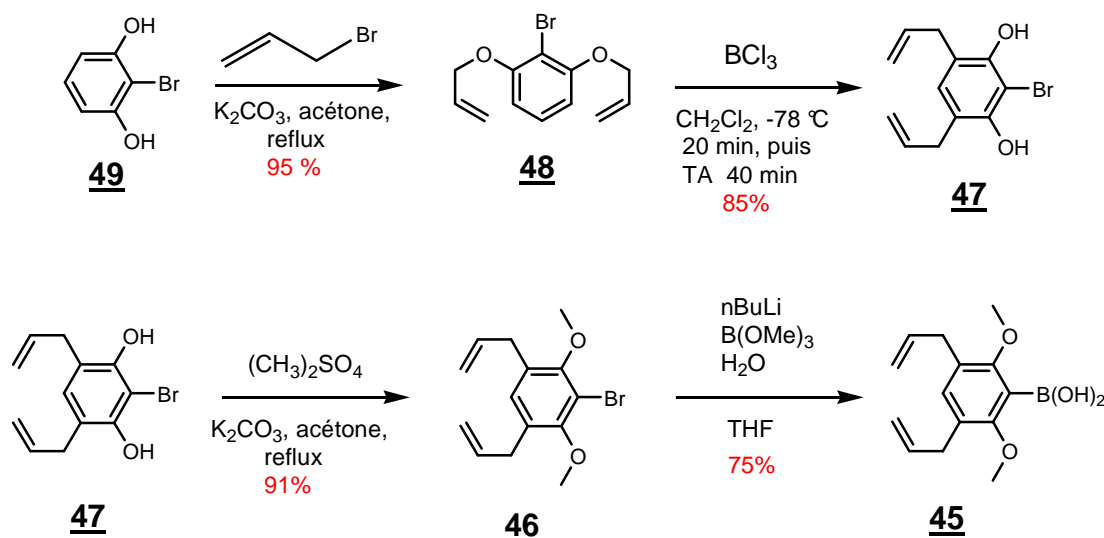


Figure 37 : synthèse de **45**

La première étape de cette synthèse correspond à la double allylation des deux fonctions hydroxyles du 2-bromorésorcinol. Cette allylation se fait avec un léger excès de bromure d'allyle en présence de K_2CO_3 dans l'acétone à reflux.⁸⁰ Après quatre heures, la totalité du produit de départ a disparu et le composé bis-allylé **48** est isolé après purification avec un rendement de 95%.

Le double réarrangement de Claisen sur le composé **48** se fait dans le dichlorométhane à $-78\text{ }^\circ\text{C}$, dans lequel est ajouté lentement 3 équivalents de BCl_3 ⁸⁸ (solution 1M dans du dichlorométhane). Après 20 minutes à $-78\text{ }^\circ\text{C}$, puis retour à température ambiante, la réaction est arrêtée au bout 40 minutes par ajout d'eau. Le composé **47** est obtenu avec un bon rendement de 85 % après quelques lavages et chromatographie éclairée sur colonne de silice. Le produit est élué avec un mélange dichlorométhane/cyclohexane 50/50.

⁷⁹ Kielhmann, E. ; Lauener, R. W. *Can. J. Chem.* **1989**, *67*, 335.

⁸⁰ Kota, S. ; Mandal, K. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 2585.

Dans les conditions classiques du réarrangement de Claisen soit un chauffage du produit **48** dans un solvant entre 150 et 200 °C, le produit **47** est obtenu avec un rendement 60 % avec la N,N-diméthylaniline.^{80,90}

L'étape suivante est une protection des groupements hydroxyles de **47** par des méthyles. Cette protection se fait par alkylation avec du diméthylsulfate dans l'acétone et en présence de K₂CO₃. Le produit protégé **46**, est obtenu avec un rendement de 91 %.

Enfin, dans la dernière étape l'acide boronique **45** est préparé à partir du composé **46** en s'inspirant d'une méthode déjà décrite dans la littérature.⁸¹ Le composé est obtenu avec un rendement satisfaisant de 75 %.

Ces deux démarches synthétiques convergent finalement lors du couplage de Suzuki entre les composés **39** et **45**. Malheureusement, malgré plusieurs tentatives dans des conditions très diverses décrites ci-après, le composé désiré n'a pas été obtenu.

Dans les conditions classiques de Suzuki (mélange biphasique méthanol-eau-toluène, Na₂CO₃), on observe la disparition des deux réactifs **39** et **45** après une nuit de réaction. Les deux produits alors formés sont la **Porphen** issue de la réduction du composé **39** ainsi que le produit issu de l'homocouplage de l'acide boronique **45**. Ces deux réactions parasites sont bien connues dans les couplages de Suzuki et peuvent être accentuées par la présence de groupements électroattracteurs ou électrodonneurs sur l'acide boronique lorsqu'il est encombré. D'après des observations ultérieures du groupe de Suzuki ces réactions parasites peuvent être évitées en effectuant les couplages dans des solvants aprotiques.⁸²

Nous avons donc reproduit les mêmes conditions de réactions que lors de la synthèse de **40** (Figure 39).⁸³ Après une nuit de réaction dans le toluène anhydre en présence de K₂CO₃, on obtient les mêmes résultats que dans les conditions classiques. L'utilisation d'autres solvants aprotiques (DME, THF, DMF) et d'autres bases (Ba(OH)₂.8H₂O, Cs₂CO₃, NaOH, K₃PO₃) dans des conditions anhydres n'ont pas non plus permis d'isoler le produit attendu.⁸⁴

Pour vérification, le couplage entre l'acide boronique **45** et le *parabromotoluène* a permis d'isoler le produit **50** dans les conditions classiques du couplage de Suzuki avec un rendement de 51 % non optimisé. Des traces du produit issu de l'homocouplage ont été observées (Figure 38). La porphyrine **39** ayant également été utilisée avec succès dans des

⁸¹ Lüning, U. ; Fahrenkrug, F. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 3119.

⁸² a) Suzuki, A. *Chem. Commun.* **2005**, 4759. b) Watanabe, T. ; Miyaura, N. ; Suzuki, A. *Synlett.* **1992**, 207.

⁸³ Melin, F. ; Choua, S. ; Bernard, M. ; Turek, P. ; Weiss, J. *Inorg. Chem.* **2006**, *45*, 10750.

⁸⁴ Miyaura, N. *Top. Curr. Chem.* **2002**, *219*, 11.

couplages de Suzuki classiques ou anhydres et aprotiques il est difficile d'expliquer les échecs répétés au cours de cette approche.

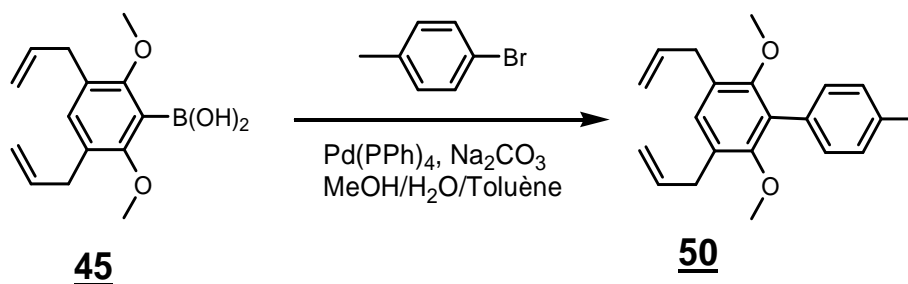


Figure 38 : réaction test de 45

Au final, cette stratégie de synthèse originale pour le développement de notre modèle générique s'est arrêtée sur un échec dans la dernière étape du couplage de Suzuki. Ainsi pour l'avancement de nos travaux nous nous sommes intéressés à la seconde stratégie.

III.2.2A partir de la *méso* (2,6-diméthoxyphényl)Porphen (40) (stratégie 2)

Nous nous sommes donc penchés sur la seconde option synthétique faisant intervenir une architecture **Porphen** comportant un substituant résorcinol protégé : la *méso* (2,6-diméthoxyphényl)**Porphen** 40. Le composé 40 a été synthétisé et caractérisé par Frédéric Melin pendant sa thèse au laboratoire selon le schéma réactionnel de la Figure 39.

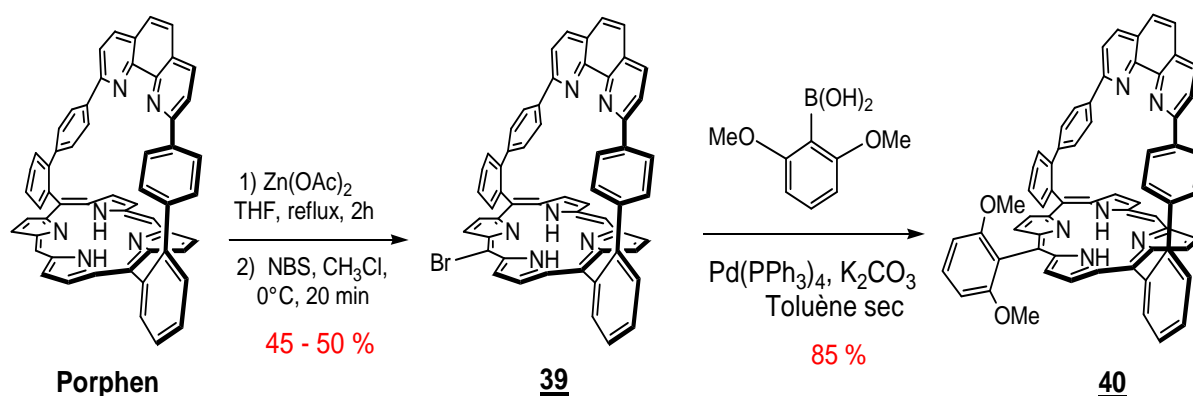


Figure 39 : synthèse de la *méso* (2,6-diméthoxyphényl)Porphen 40

Ce composé peut être préparé à l'échelle du gramme en peu de temps. Il est obtenu à partir de la **Porphen** en plusieurs étapes. Tout d'abord, la **Porphen** est métallée au zinc, puis la **Porphen** zinguée est bromée sélectivement en position *méso* en utilisant un défaut de la N-

bromosuccinimide (NBS) dans le chloroforme à 0 °C en s'inspirant d'une méthode décrite dans la littérature.⁸⁵ Cette bromation fournit un mélange de trois produits : le produit monobromé (majoritaire), le produit dibromé, et le produit de départ.⁸⁶ Après démétallation en milieu acide (acide trifluoroacétique), les trois composés sont séparés facilement en chromatographie sur colonne d'alumine (éluant cyclohexane/dichlorométhane 3 : 2 puis 1 : 1). La dernière étape de cette synthèse est un couplage de Suzuki entre la bromo**Porphen 39** et un excès d'acide-2,6-diméthoxyphényle boronique en milieu toluène anhydre et basique (carbonate de potassium) en présence palladium(0) en quantité catalytique.⁸⁷ Notre composé de départ **40** est obtenu avec un très bon rendement (supérieur à 80 %).

III.2.3 Insertion de fonctions allyles sur le composé **40**

L'insertion de fonctions allyles sur notre synthon de départ se fait en deux étapes (Figure 40).

III.2.3.1 Clivage des fonctions éthers de méthyles

La première étape consiste à un clivage des fonctions éthers de méthyles de **40**. Cette réaction se fait en présence de BBr₃ (solution 1M dans du CH₂Cl₂) dans du dichlorométhane, préalablement distillé sur du P₂O₅ et à reflux. La réaction est stoppée par ajout lent de méthanol à température ambiante. En raison de son insolubilité, le produit obtenu **41** est directement utilisé pour l'étape suivante sans aucune purification.

III.2.3.2 L'allylation

Dans cette seconde étape, le produit brut **41** obtenu précédemment subit une réaction d'alkylation en présence d'un excès de bromure d'allyle et d'un excès de carbonate potassium activé par une quantité catalytique de 18-crown-6 dans l'acétone. L'utilisation du 18-crown-6 dans l'acétone permet d'exalter la basicité du carbonate de potassium grâce à la complexation du potassium. Le rendement global des deux étapes peut aller jusqu' à plus de 80 %. Les deux étapes de l'insertion des fonctions allyles sont illustrées sur la Figure 40.

⁸⁵ DiMugno, S. G. ; Lin, V. S. -Y. ; Therien, M. J. *J. Org. Chem.* **1993**, 58, 5983.

⁸⁶ Koepf, M. ; Wytko, J. A. ; Bucher, J. -P. ; Weiss, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 9994.

⁸⁷ Suzuki, A. *Journal of organometallic chemistry* **1999**, 576, 147.

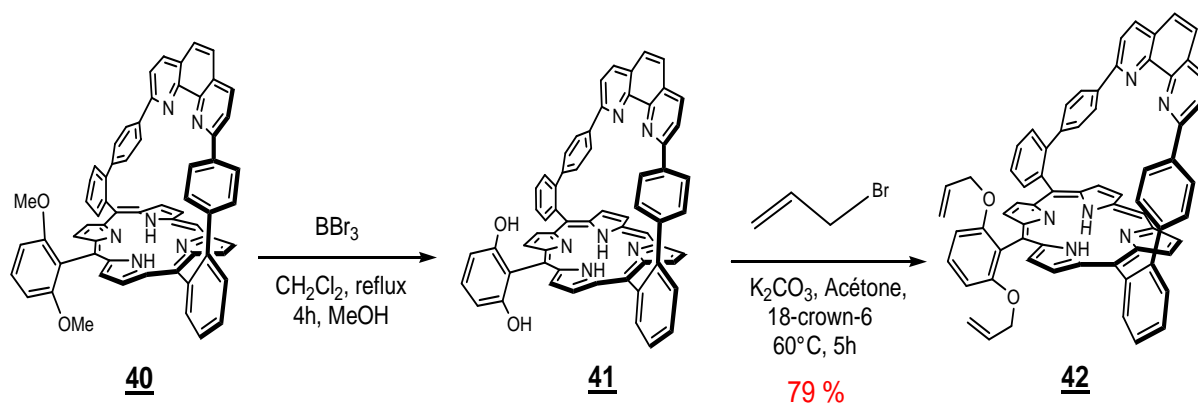


Figure 40 : synthèse de **42**

III.2.3.3 Réarrangement de Claisen des fonctions allyles

Cette étape permet de libérer les deux points de fixations prévus l'un pour une base axiale embarquée dans la structure, l'autre pour le ligand auxiliaire du cuivre dans le cas des modèles de cytochrome *c* oxydase. Simultanément, les deux chaînes solubilisantes migrent sur la plateforme résorcinol et permettent de conserver une bonne solubilité. Cette transformation multiple consiste en un double réarrangement de Claisen⁸⁸ sur le composé **42** dissout dans un solvant chauffé à 200 °C. Le choix du solvant a été très déterminant dans cette réaction. Les premiers essais ont été faits avec de la décaline⁸⁹ ou de la N,N-diméthylaniline,⁹⁰ en s'inspirant de méthode décrite dans la littérature, mais n'ont pas permis d'isoler notre produit désiré **43**. Par contre dans le diphenyle éther, le produit **43** est obtenu avec de bons rendements pouvant aller jusqu'à 85 % (Figure 41)

⁸⁸ Lutz, R. P. *Chem. Rev.* **1984**, 84, 206.

⁸⁹ a) Nagawa, Y. ; Fukazawa, N. ; Suga, J. -I. ; Horn, M. ; Tokuhisa, H. ; Hiratani, K. ; Watanabe, K. *Tetrahedron Lett.* **2000**, 41, 9261. b) Tokuhisa, H. ; Nagawa, Y. ; Uzawa, H. ; Hiratani, K. *Tetrahedron Lett.* **1999**, 40, 8007. c) Hiratani, K. ; Uzawa, H. ; Kasuga, K. ; Kambayashi, H. *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 8993.

⁹⁰ Moffett, R. B. *J. Chem. Eng. Data* **1980**, 25, 176.

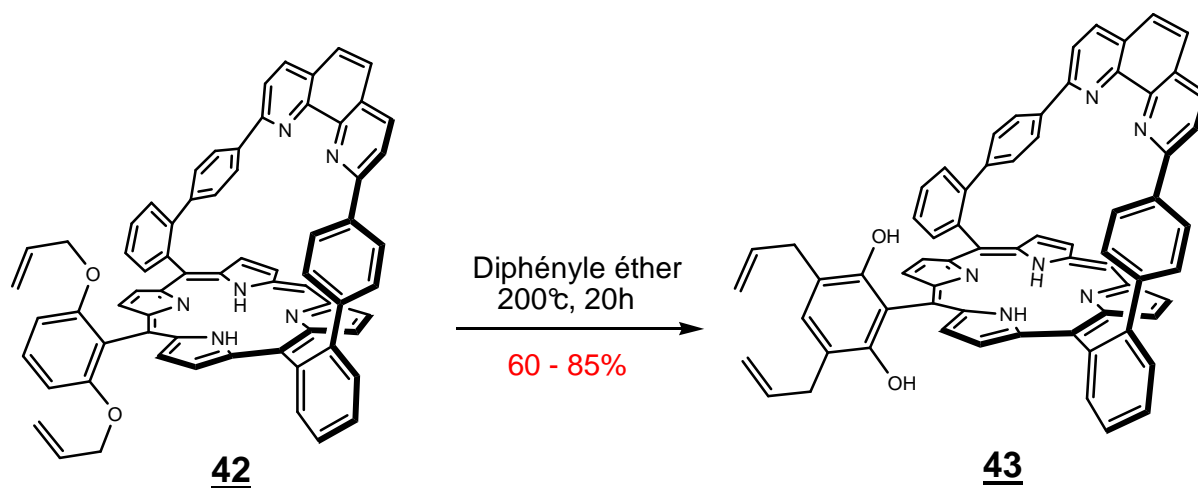


Figure 41 : synthèse de **43** par réarrangement de claisen

La différence de réactivité entre les trois solvants, même si elle est difficile à rationaliser, pourrait être due à leur différence de polarité.⁹¹ Pour éviter l'oxydation des groupements phénoliques de **43** dans le diphenyle éther, le mélange réactionnel doit être consciencieusement dégazé et maintenu sous atmosphère inerte (argon) durant les 20 h de chauffage à 200 °C. Le diphenyle éther étant solide à température ambiante, il est fondu par chauffage léger dans un premier temps pour permettre son dégazage, puis à nouveau dégazé après addition de la porphyrine pendant la montée en température. La purification est effectuée sans lavage mais par simple chromatographie éclair sur une colonne de silice en y déposant le mélange réactionnel refroidi. L'élution se fait d'abord avec du cyclohexane pour se débarrasser du diphenyle éther puis on finit par un gradient de mélange cyclohexane/acétate d'éthyle pour récupérer le produit désiré. On constate immédiatement l'intérêt des chaînes allyles latérales puisque le diol **43** peut être purifié par chromatographie alors que le diol **41** n'est utilisable que sous sa forme brute. Le produit **43** peut ainsi être obtenu dans des quantités importantes ce qui est intéressant pour l'étude de fines variations structurales pour ce type de composé.

III.3 Caractérisation des produits **42** et **43**

Les deux isomères **42** et **43** ont été caractérisés par RMN du proton. L'interprétation des spectres RMN présentés sur la Figure 42 a été facilitée par l'utilisation de séquences 2D COSY et ROESY. Une rapide comparaison des deux tracés concernant les régions

⁹¹ White, W. ; Wolfarth, E. F. *J. Org. Chem.* **1970**, 35, 2196.

aromatiques et aliphatiques des composés **42** et **43** montre que les changements les plus importants ne concernent que les protons du macrocycle porphyrinique et du résorcinol portant les allyles, les protons de l'anse restant presque inchangés.

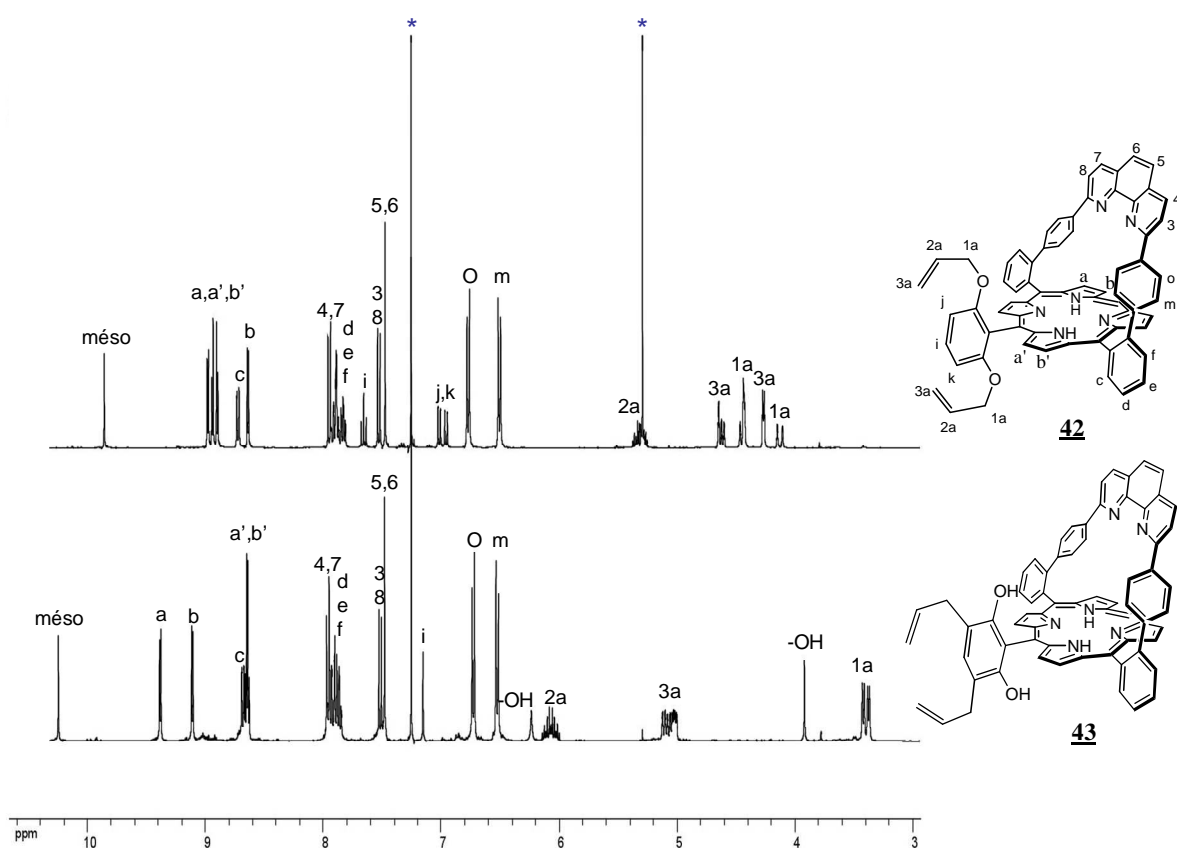


Figure 42 : spectre RMN ^1H des composés **42** et **43** dans du CDCl_3 à 25 °C (* : résidus de solvants)

Dans le composé **42** les protons β pyrroliques apparaissent sous forme de quatre doublets de constante de couplage identique égale à 4,8 Hz alors que sur le composé **43** ceux-ci apparaissent sous la forme de deux doublets de constante de couplage égale 4,8 Hz et d'un singulet. Ces changements traduisent un gain de symétrie et suggèrent que le phénomène d'atropoisométrie, bloqué dans le composé **42**, soit à nouveau permis dans le composé **43** grâce à l'éloignement des groupements allyles. Alors que ceux-ci pouvaient être clairement distingués lorsqu'ils étaient positionnés de part et d'autre du plan porphyrinique, ils sont difficilement distinguables dans le diol ce qui confirme leur interaction nulle avec le plan porphyrinique. Les variations de déplacements chimiques les plus marquantes entre les deux composés **42** et **43**, sont récapitulées dans les deux tableaux ci-dessous.

	42 (δ_1)	43 (δ_2)	$\Delta\delta = \delta_2 - \delta_1$
meso	9.86	10.25	0.39
a	8.98	9.38	0.4
b	8.64	9.11	0.47
a'	8.94	8.65	-0.29
b'	8.90	8.65	-0.25
i	7.66	7.61	-0.05

	42 (δ_1)	43 (δ_2)	$\Delta\delta = \delta_2 - \delta_1$
1a	4.45	3.4	-1.05
1a	4.13	3.4	-0.73
2a	5.32	6.07	0.75
3a _{trans}	4.27	5.07	0.8
3a _{cis}	4.62	5.07	0.45

Tableau 1 : tableaux comparatif des principaux déplacements chimiques de **42** et **43**

III.4 Introduction de chaînes grasses par métathèse croisée

Depuis quelques années la métathèse des oléfines a acquis le statut d'un puissant outil pour la formation de liaisons carbone-carbone en synthèse organique.⁹² La métathèse des alcènes est utilisée dans plusieurs applications en chimie organique parmi lesquelles on peut citer : la fermeture de cycle par métathèse (RCM : Ring Closing Metathesis), la polymérisation des diènes acryliques par métathèse (ADMET : Acrylic Diene Metathesis Polymerisation), la polymérisation par ouverture de cycle par métathèse (ROMP : Ring Opening Metathesis polymerisation), l'ouverture de cycle par métathèse (ROM : Ring Opening Metathesis) et la métathèse croisée (CM : Cross Metathesis).^{93,94,95}

Parmi toutes ces méthodes, la métathèse croisée est la moins utilisée en synthèse organique. Cette sous utilisation est due au manque de sélectivité et de stéréosélectivité de la réaction vis-à-vis des alcènes formés. La découverte et la mise sur le marché de catalyseurs de Grubbs de seconde génération, très stables et faciles à utiliser a permis d'améliorer la chimiosélectivité et stéréosélectivité de la réaction et a contribué à un renouveau d'intérêt pour la métathèse croisée.⁹⁵

L'utilisation de la métathèse croisée pour introduire des chaînes grasses sur des composés porphyriniques est très récente.⁹⁶ L'exemple qui suit peut être considéré comme relativement précurseur dans ce domaine.

⁹² Chauvin, Y. ; Grubbs, R. H. ; Schrock, R. R. *Prix nobel de Chimie*, **2005**.

⁹³ Grubbs, R. H. ; Miller S. J. ; Fu, G. C. *Acc. Chem. Res.* **1995**, *28*, 446.

⁹⁴ Buchmeiser, M. R. *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 1565.

⁹⁵ Connon, S. J. ; Blechert, S. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2003**, *42*, 1900.

⁹⁶ a) Liu, X. ; Sternberg, E. ; Dolphin, D. *Chem. Commun.* **2004**, *57*, 852. b) Liu, X. ; Sternberg, E. ; Dolphin, D. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 6542.

La métathèse croisée sur les deux fonctions allyles de notre composé **43** avec l'hexène commercial a été effectuée en adaptant un procédé expérimental déjà décrit dans la littérature.⁹⁷ La réaction a été réalisée sous atmosphère inerte dans du dichlorométhane en présence d'un catalyseur de Grubbs de seconde génération (Figure 43).

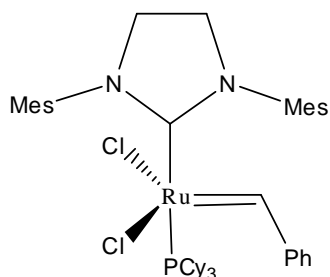


Figure 43 : catalyseur de Grubbs de seconde génération

Après une nuit de reflux, la totalité du produit de départ a disparu. Après évaporation du solvant, le produit est déposé directement sur une colonne de silice et est purifié par chromatographie éclair. Le produit isolé **51** est un mélange de stéréoisomères E/Z avec un bon rendement de 83 %. Dans notre utilisation de la métathèse croisée, les considérations stéréochimiques n'ont que peu d'intérêt, mais à titre indicatif on notera que l'analyse du spectre RMN proton de ce mélange montre une forte sélectivité vers la formation de l'isomère E, seule une trace de l'isomère Z stériquement moins favorable pouvant être observée.

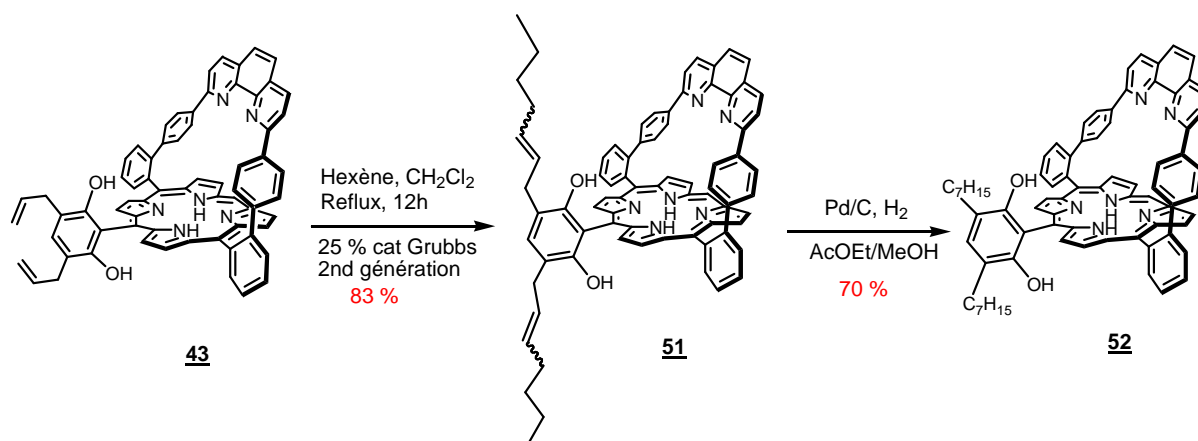


Figure 44 : synthèse du composé **52**

⁹⁷ Langford, S. J. ; Latter, M. J. ; Woodward, C. P. *Org. Lett.* **2006**, 8, 2595.

L'hydrogénation catalytique du mélange des deux stéréoisomères se fait dans un mélange méthanol/acétate d'éthyle en présence de palladium sur charbon 10% sous atmosphère d'hydrogène. Elle a permis d'obtenir le composé **52** avec un rendement acceptable de 70 % (voir Figure 44).⁹⁷

La Figure 45 superpose les spectres des trois composés **43**, **51** et **52** dans du CDCl₃ à température ambiante. Outre la disparition confirmée des signaux caractéristiques (encadrés en rouge) des oléfines dans le produit réduit, cette superposition permet de constater qu'il n'y a aucune perturbation de la géométrie de la porphyrine à anse due aux changements fonctionnels périphériques.

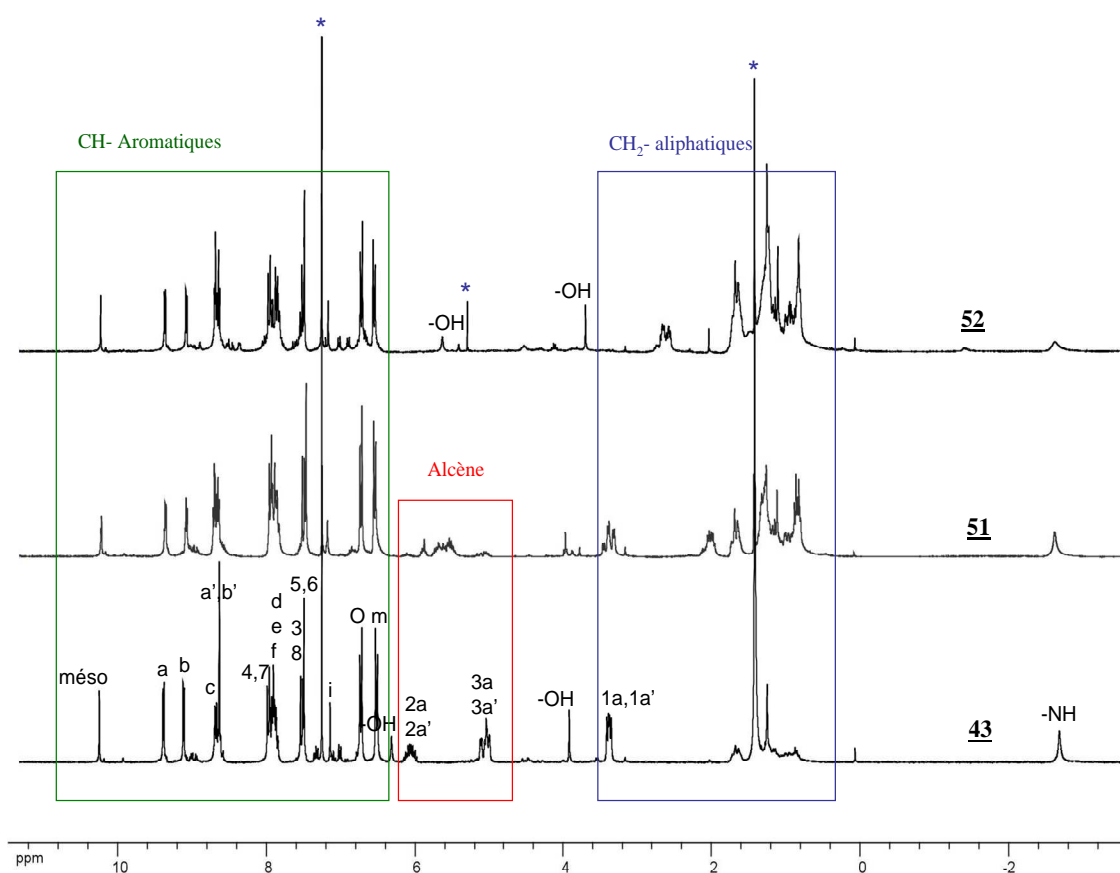


Figure 45 : spectres RMN ¹H des composés **43**, **51** et **52** dans du CDCl₃ à 25 ° (* : résidus de solvants)

En effet, dans la zone des aromatiques (encadré en vert) où se trouvent les protons du cycle porphyrinique et les protons de l'anse, les déplacements chimiques sont quasi-identiques pour les trois composés **43**, **51** et **52**.

III.5 Greffage de la base axiale et du ligand auxiliaire

A ce stade de nos travaux nous avons pu synthétiser deux composés **43** et **52** à fort potentiel pour le développement de modèles d'hémoprotéines. Les rendements obtenus jusqu'à présent sont très satisfaisants pour des composés superstructurés de ce genre. Dans la suite nous allons essayer de construire nos modèles de cytochrome *c* oxydase à partir de ces deux composés. Notre but est de greffer des ligands coordinants azotés (imidazole et pyridine) sur les fonctions hydroxyles des composés **43** et **52**. Notre première molécule cible a été la molécule **54** de la Figure 46.

Le choix de la longueur de la chaîne pour accrocher les imidazoles sur les fonctions hydroxyles a été facilité par le modèle de cytochrome *c* oxydase déjà synthétisé au laboratoire par le Dr Frédéric Melin.

III.5.1 Greffage avec des ligands de type imidazole

Suivant l'expérience acquise au laboratoire, le greffage d'imidazoles se fait en deux étapes. Dans un premier temps, les deux fonctions hydroxyles sont alkylées avec du 1,3-dibromopropane en très large excès, pour éviter la substitution du deuxième brome de ce réactif, dans l'acétone à reflux pendant 20h en présence de K_2CO_3 et de 18-crown-6. Le composé **53** est ainsi obtenu avec un rendement de 79 %. Le composé **53** est ensuite mis à réagir avec de l'imidazolite de sodium préparée *in situ* dans du THF distillé, par ajout de NaH (60 % dans l'huile) préalablement lavé avec du pentane sec (Figure 46). La réaction est arrêtée après disparition totale de produit de départ, soit après 20h de reflux.

Malheureusement après traitement et purification, parmi les deux composés isolés aucun ne s'est révélé être le produit attendu d'après les résultats obtenus en spectrométrie de masse.

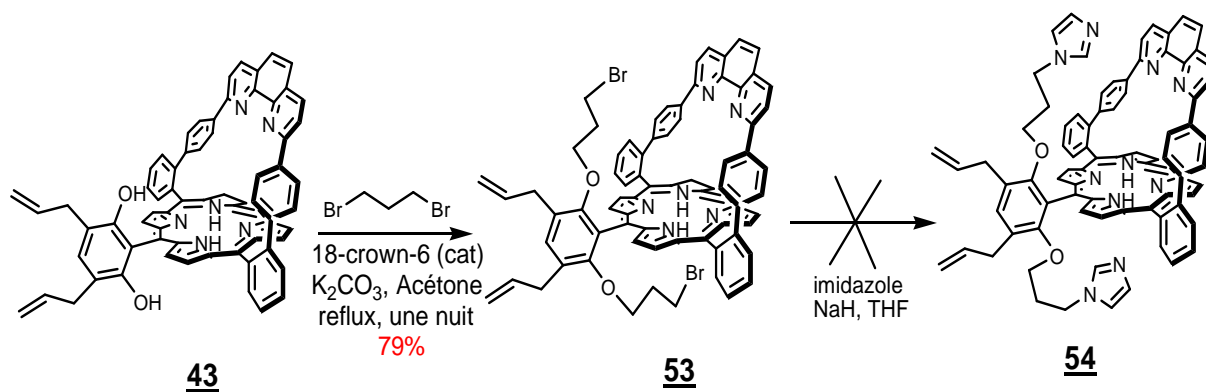


Figure 46 : échec de la synthèse de **54**

A partir de la masse moléculaire obtenue du spectre de masse de l'un des deux composés (Figure 47), nous avons remarqué qu'elle correspondait à la fixation d'une seule molécule d'imidazole et à la perte des deux atomes brome. Dès lors, nous avons pu proposer les deux structures **A** et **B** possibles pour ce composé. Les deux atropoisomères **A** et **B** sont représentés sur la Figure 47. La perte d'un des deux bromes a entraîné la formation d'une double liaison allylique. La difficulté d'obtenir des spectres RMN exploitables peut être due à l'atropoisométrie. Malgré plusieurs purifications, les rendements faibles observés nous ont empêchés de caractériser la structure exacte du composé obtenu. Les tentatives de cristallisation du produit obtenu n'ont rien donné.

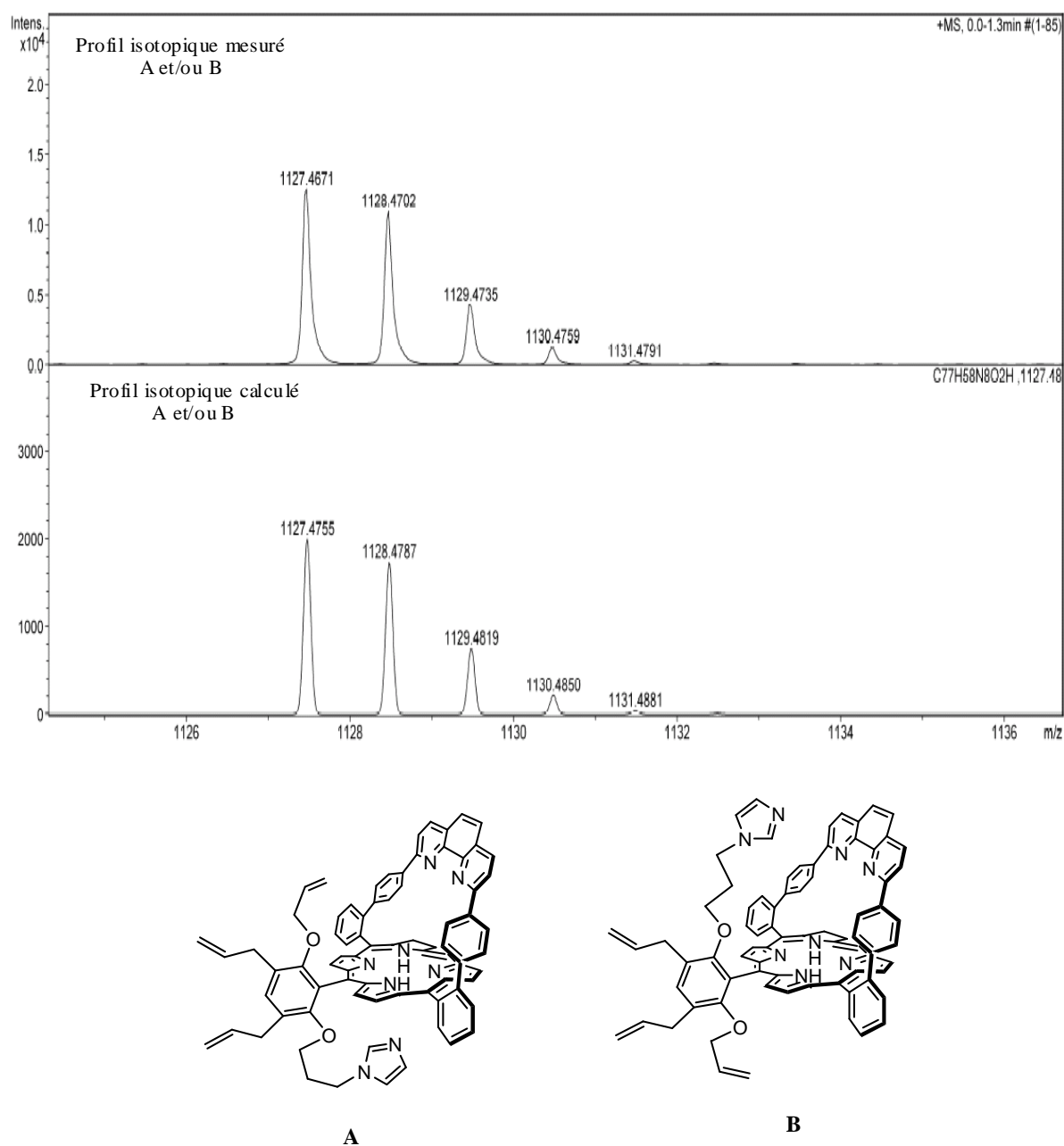


Figure 47 : profil isotopique mesuré et calculé des atropoisomères **A** et **B** (électrospray à haute résolution)

La formation de la double liaison allylique pourrait s'expliquer par une compétition entre la réaction de substitution nucléophile de l'imidazolate et une réaction d'élimination.

Le spectre de masse et la RMN proton du second produit ne nous ont pas apportés assez d'informations pour le caractériser, mais il est plausible que le produit corresponde à l'atropoisomère A, l'encombrement du côté distal expliquant la préférence pour une réaction d'élimination vis-à-vis de la substitution nucléophile.

Un nouvel essai effectué en remplaçant le NaH par le DBU, dans le but d'éviter la réaction d'élimination, a alors été réalisé mais sans donner aucun résultat satisfaisant. Cette voie de synthèse a alors été abandonnée.

III.5.2 Greffage avec des ligands de type pyridine

Après l'échec avec les imidazoles, une nouvelle voie de synthèse a été développée en remplaçant les imidazoles par des pyridines. Dans ce cas, nous avons tout d'abord synthétisé deux composés comportant une pyridine avec une chaîne aliphatique de trois carbones. L'un possède un brome comme groupe partant **56**, l'autre un mésylate **55** selon des méthodes décrites dans la littérature (Figure 48).⁹⁸

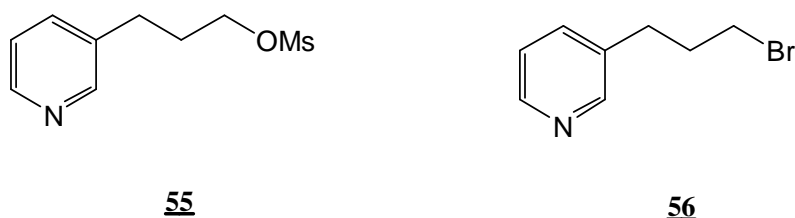


Figure 48 : ligands de type pyridine

⁹⁸ a) Cheng, J. ; Chunming, Z. ; Stevens, E. D. ; Izenwasser, S. ; Wade, D. Chen, S. ; Paul, D. ; Trudell, M. L. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 3041.

b) Solladié, G. ; Somny, F. ; Colobert, F. *Tetrahedron Asym.* **1997**, *8*, 801.

L'instabilité des composés **55** et **56** nous impose de les utiliser soit directement après purification pour **56**, soit sans aucune purification pour **55**. Dans tous les cas, l'alkylation de **43**⁹⁹ avec l'un des deux composés **55** ou **56** est réalisée sous atmosphère inerte en présence de K₂CO₃ et de 18-crown-6 en quantité catalytique dans le THF ou la DMF chauffés à 80 °C pendant une nuit. Après traitement et purification nous avons pu isoler le produit désiré **57** avec un rendement variant entre 50 et 60 % (Figure 49).

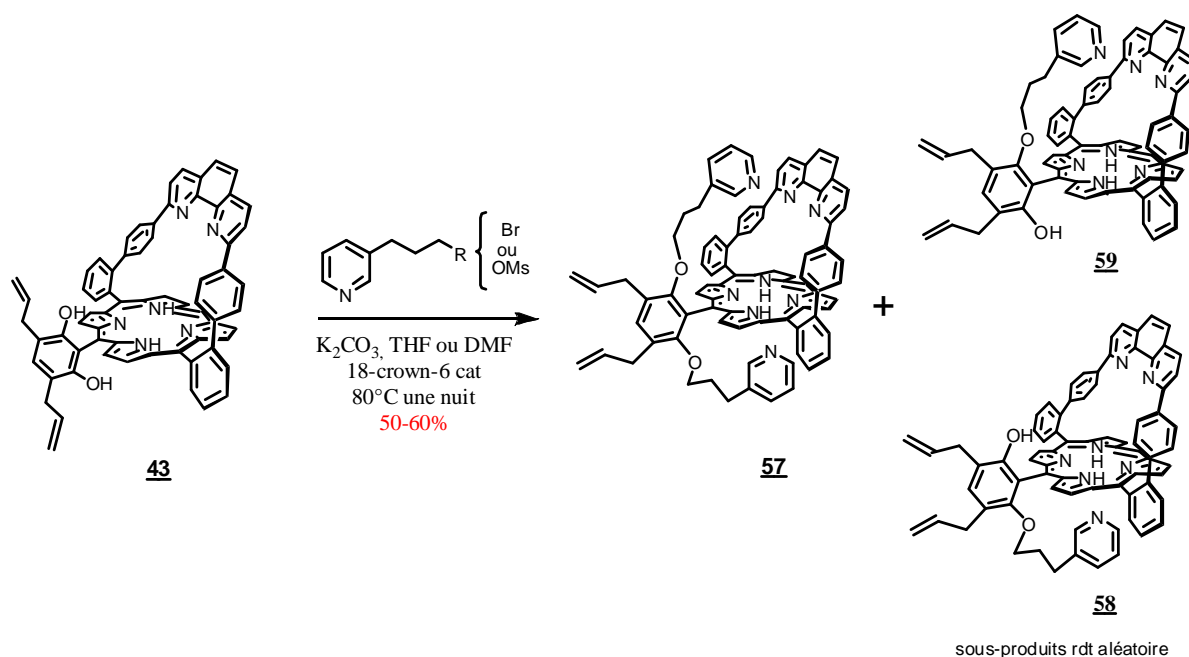


Figure 49 : synthèse de **57**

Cependant, il faut noter qu'au cours de cette synthèse la présence de produit résultant d'une alkylation partielle des fonctions hydroxyles a été mise en évidence par spectrométrie de masse et par chromatographie sur plaque de silice. Mais les rendements aléatoires des ces sous produits et la difficulté d'obtenir des spectres RMN exploitables nous ont empêchés de bien caractériser la structures de ces produits.

Du fait de l'importance des produits monoalkylés notamment dans la différenciation du coordinant distal et du coordinant proximal, nous avons essayé d'isoler le produit monoalkylé seul. Mais les essais effectués en travaillant en sous stœchiométrie de **55** ou **56** ne nous ont pas, jusqu'à présent, permis d'obtenir un produit monoalkylé de manière sélective.

L'alkylation de **52** avec **55** ou **56**, dans les mêmes conditions que précédemment, conduit au produit **60** avec un rendement de 65 % (Figure 50).

⁹⁹ Aissaoui, H. ; Ghirlanda, S. ; Gmür, C. ; Woggon, W. –D. *J. Mol. Catalysis A: Chemical* **1996**, *113*, 393.

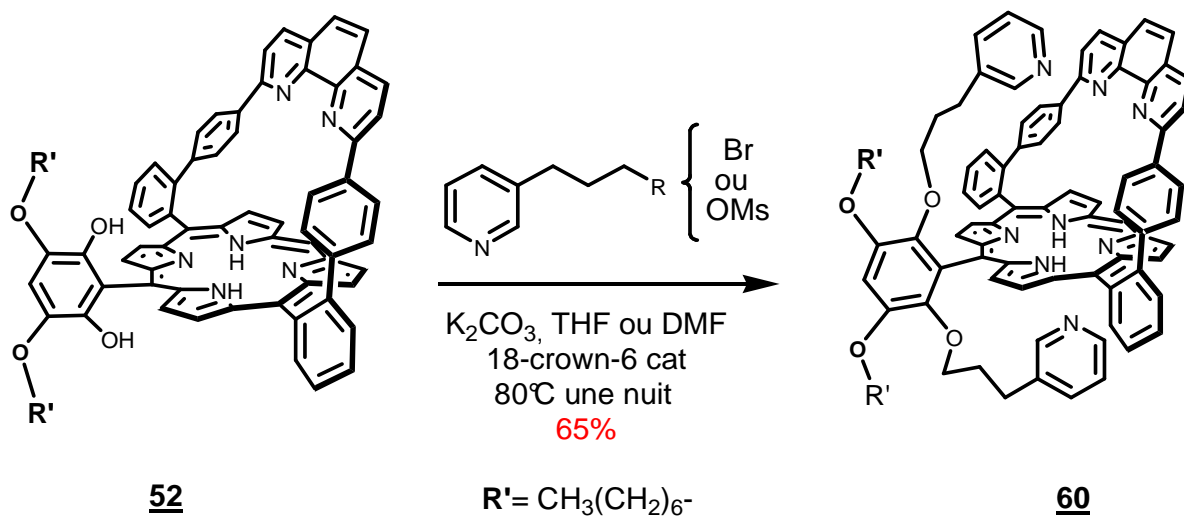


Figure 50 : synthèse de **60**

IV Conclusion

La stratégie de synthèse que nous avons mise en œuvre avec un double réarrangement de Claisen original sur une porphyrine superstructurée nous a permis de synthétiser des modèles génériques d'hémoprotéines **43** et **52**. Avec ce dernier, nous avons essayé, sans succès, de greffer des bases pendantes de type imidazole. Malgré cet échec, nous sommes arrivés à greffer des bases équivalentes en pyridine, ce qui nous a donné un premier ligand **57** à fort potentiel pour un modèle de cytochrome *c* oxydase. Un second ligand semblable **60** avec des chaînes grasses introduites par métathèse croisée a aussi été obtenu. La caractérisation des deux ligands, la métallation avec différents métaux et les études physicochimiques font l'objet du chapitre suivant.

CHAPITRE III :

Caractérisation des ligands et études physicochimiques des complexes de zinc et de fer

Chapitre III : Caractérisation des ligands et études physicochimiques des complexes de zinc et de fer

I Introduction

Dans le chapitre précédent nous avons démontré le potentiel synthétique d'un dérivé multifonctionnel de la **Porphén** en préparant deux nouveaux ligands ditopiques **57** et **60**, comme modèles potentiels de cytochrome *c* oxydase. Ce chapitre sera consacré, dans un premier temps, à la caractérisation de ces deux ligands puis, dans un second temps, à la caractérisation de leurs complexes de zinc et de fer. Les possibilités de coordination d'un des deux hèmes obtenus par des ligands exogènes dérivés de l'imidazole seront aussi examinées.

II Caractérisation RMN des ligands

Les ligands **57** et **60** ont été caractérisés par plusieurs techniques spectroscopiques : RMN, spectrométrie de masse, UV-Visible, analyse élémentaire (voir partie expérimentale).

La caractérisation RMN sera détaillée dans cette partie. Les spectres RMN ont été enregistrés dans le chloroforme deutéré à température ambiante et le spectre unidimensionnel du ligand **57** est représenté sur les figures ci-dessous.

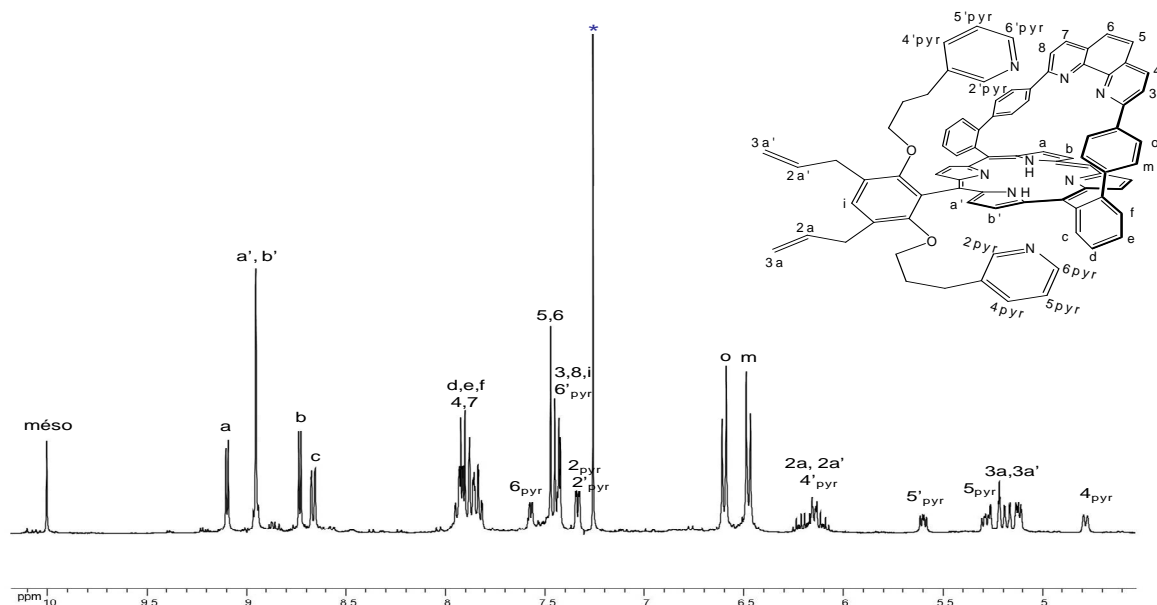


Figure 51 : spectre RMN proton du ligand **57** entre 10,2 et 4 ppm (CDCl₃, 400 MHz)

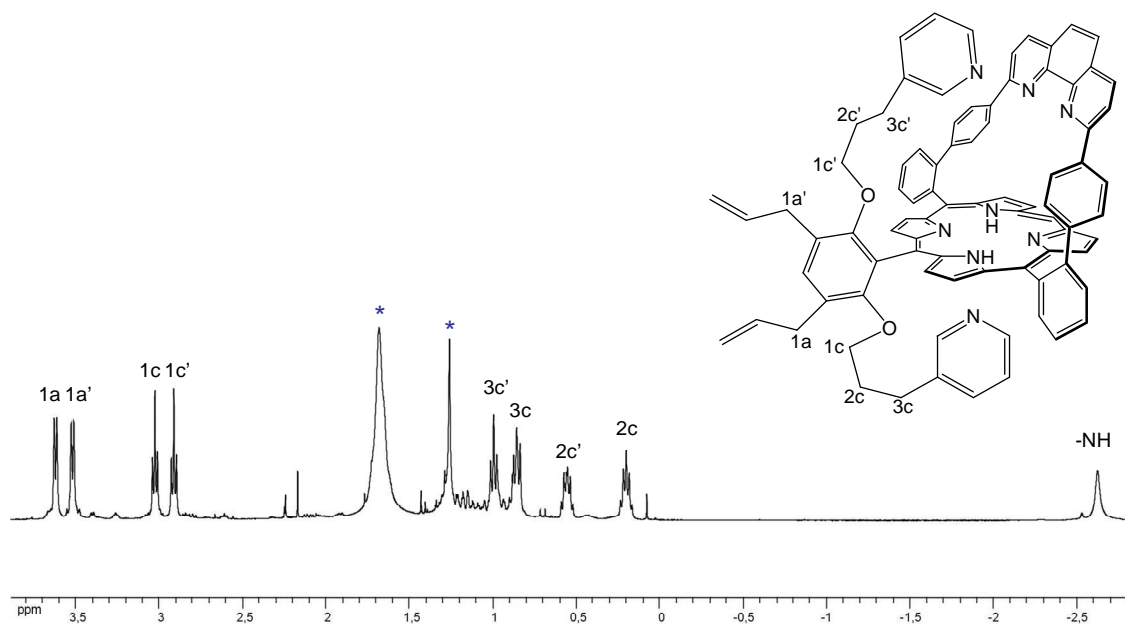


Figure 52 : spectre RMN proton du ligand **57** entre 4 et 2,8 ppm (CDCl_3 , 400 MHz)

Dans ce spectre, le proton méso qui est le plus déblindé à 10,01 ppm et les protons NH internes du cycle macrocyclique porphyrinique à - 2,6 ppm qui sont les plus blindés sont les plus faciles à identifier. Ils constituent le point de départ de l'attribution de tous les protons du ligand **57**. Les signaux correspondant aux protons β pyrroliques (H_a , H_b , $H_{a'}$, $H_{b'}$) sont observés entre 9,11 et 8,73 ppm sous la forme de deux doublets intégrant chacun pour deux protons avec une constante de couplage de $J = 4,7$ Hz et d'un singulet intégrant pour quatre protons. Les protons aromatiques des groupements phényles et de la phénanthroline de l'anse sont étalés dans la fenêtre allant 8,68 à 6,47ppm. Dans cette zone, les protons H_o et H_m des espaceurs phényles de l'anse résonnent à 6,60 et 6,48 ppm sous la forme de deux doublets caractéristiques intégrant chacun pour quatre protons avec une constante de couplage de $J = 8,4$ Hz. Il faut noter également l'étalement inhabituel des protons pyridiniques entre 7,96 et 4,75 ppm. Enfin les protons allyliques et protons aliphatiques se trouvent entre 6,22 et 0,15 ppm.

L'attribution sans ambiguïté de tous les protons a été rendue possible grâce à la réalisation d'expériences bidimensionnelles COSY et ROESY.

L'expérience COSY est dédiée à la détection de couplages scalaires homonucléaires. Ces couplages indirects ont pour origine les interactions entre les spins nucléaires et les spins électroniques ils apportent des informations précieuses sur les atomes voisins, mais leur portée est limitée par le nombre de liaisons chimiques qui séparent les deux atomes.

L'expérience ROESY quant à elle permet de détecter les couplages dipolaires directs à travers l'espace entre les spins nucléaires. Sa portée est dépendante de la distance qui sépare les deux noyaux couplés. Contrairement aux couplages scalaires, les couplages dipolaires sont invisibles sur les spectres unidimensionnels.

Pour avoir plus d'informations sur la structure du ligand **57** une analyse approfondie des spectres COSY et ROESY a été effectuée dans le but de distinguer les deux noyaux pyridiniques et leurs positions respectives par rapport au cycle porphyrinique et à l'anse phénanthroline.

Il est nécessaire de détailler l'attribution des protons pyridiniques et méthyléniques des chaînes pendantes qui relient les pyridines au macrocycle porphyrinique afin de pouvoir en interpréter les déplacements consécutifs à la métallation du cœur porphyrinique.

La Figure 53 représente une partie du spectre COSY du ligand **57** qui nous a permis d'attribuer tous les protons des groupements pyridiniques et des chaînes méthyléniques.

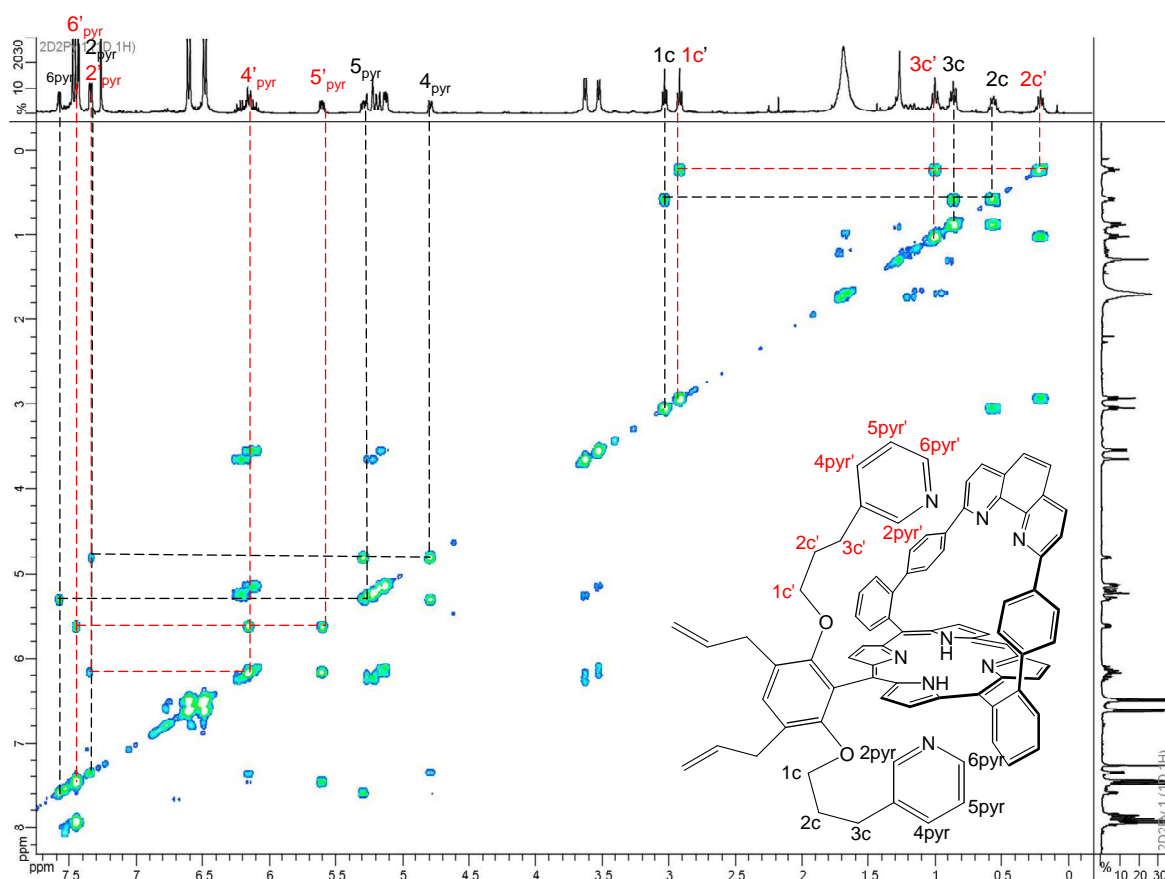


Figure 53 : extrait de la carte RMN COSY (^1H - ^1H) de **57** dans du CDCl_3 à 400 MHz

Le signal à 7,57 ppm de faible intensité est attribué au proton $H_{6\text{pyr}}$ d'une des pyridines. Le couplage observé à partir de ce signal sur la carte COSY permet l'identification du proton $H_{5\text{pyr}}$ dans le multiplet entre 5,30 et 5,10 ppm. Ce dernier présente deux taches de corrélation. La première est attribuée au couplage scalaire entre les protons $H_{4\text{pyr}}/H_{5\text{pyr}}$ permettant donc l'attribution du proton $H_{4\text{pyr}}$ et la seconde de faible intensité à 7,34 ppm permet d'identifier le proton $H_{2\text{pyr}}$. Ce signal à 7,34 ppm ($H_{2\text{pyr}}$), intégrant pour deux protons présente aussi une autre tache de corrélation de faible intensité. Celle-ci est attribuée au couplage entre le proton $H_{2'\text{pyr}}$ et le proton $H_{4'\text{pyr}}$ qui est localisé dans le multiplet entre 6,27 et 6,05 ppm. Ce dernier présente une autre tache de corrélation qui a permis d'identifier le proton $H_{5'\text{pyr}}$ comme étant le multiplet entre 5,61 et 5,58 ppm. Enfin le dernier proton $H_{6'\text{pyr}}$ qui se trouve dans le multiplet entre 7,45 et 7,42 ppm a été attribué à partir de la seconde tache de corrélation du proton $H_{5'\text{pyr}}$ observée sur la carte COSY.

Les deux multiplets observés entre 0,59 et 0,52 et entre 0,24 et 0,67 sont attribués aux protons H_{2c} et $H_{2c'}$ des chaînes méthyléniques. Les deux couplages vicinaux successifs observés à partir de chaque signal (H_{2c} et $H_{2c'}$) sur la Figure 53 permettent d'attribuer les protons H_{3c} , $H_{3c'}$, H_{1c} , $H_{1c'}$.

Sur la Figure 54 est représentée la carte ROESY du ligand **57**. Les agrandissements des deux rectangles rouge et bleu de cette carte sont représentés sur la Figure 55.

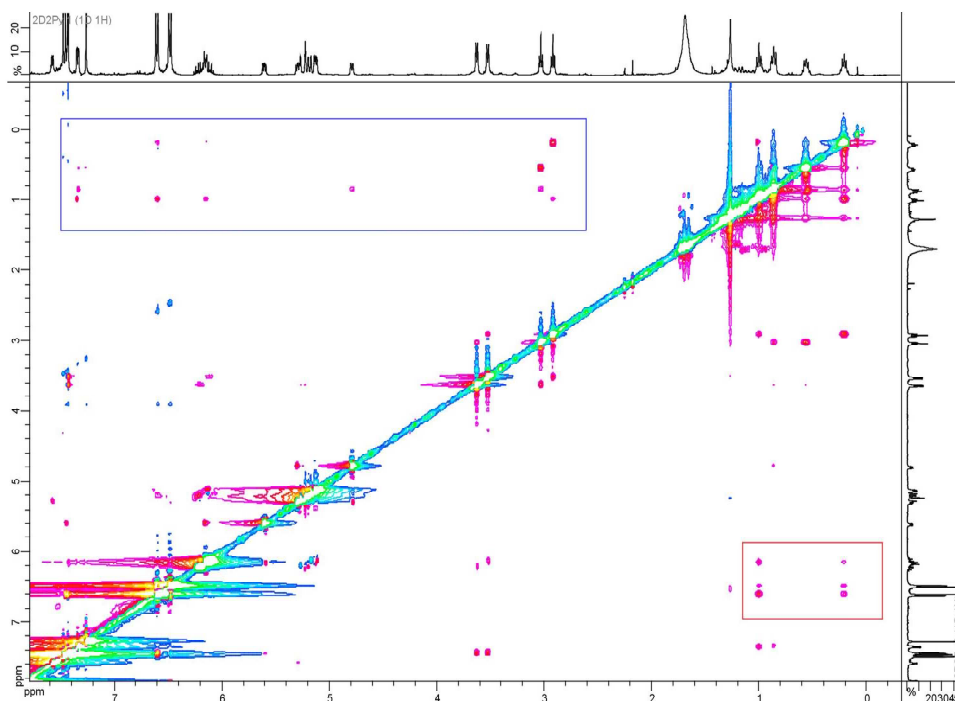


Figure 54 : carte RMN ROESY (^1H - ^1H) de **57** dans du CDCl_3 à 400 MHz

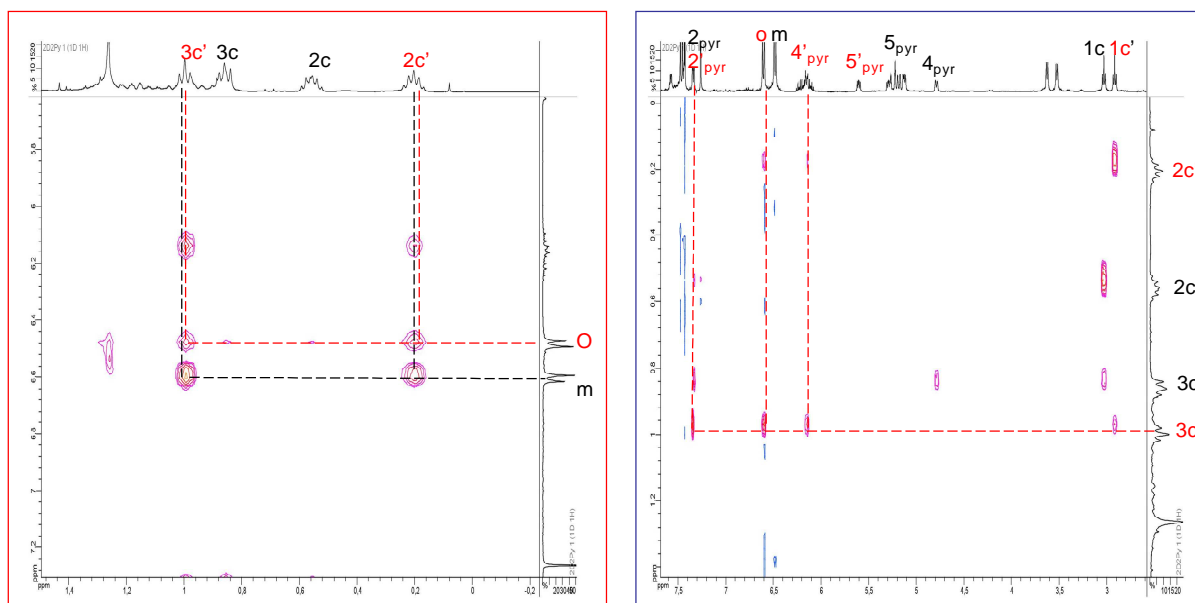


Figure 55 : agrandissements des rectangles bleu et rouge de la carte ROESY de **57**

Les taches de corrélation ROESY observées entre les protons caractéristiques H_0 et H_m de l'anse et les protons méthyléniques $H_{2c'}$ et $H_{3c'}$ (encadré en rouge) permettent de différencier les chaînes pendantes. Ainsi, les protons méthyléniques $H_{1c'}$, $H_{2c'}$ et $H_{3c'}$ sont situés du côté de l'anse (coté distal) tandis que les protons H_{1c} , H_{2c} et H_{3c} sont situés sur l'autre face de porphyrine (coté proximal). En outre, l'observation de taches de corrélation ROESY entre les protons $H_{3c'}$ et les protons $H_{4'pyr}$ et $H_{2'pyr}$ (encadré en bleu) d'une des pyridines, permet d'affirmer sans équivoque que le noyau pyridinique contenant les protons $H_{2pyr'}$, $H_{4pyr'}$, $H_{5pyr'}$ et $H_{6pyr'}$ est lié à la chaîne pendante située du côté de l'anse (pyridine distale).

De la même manière, les protons du ligand **60** ont été attribués en utilisant les mêmes expériences RMN. Une comparaison des spectres protons des deux ligands **57** et **60** montre une quasi-similitude des protons du macrocycle porphyrinique et de l'anse phénanthroline comme nous pouvons le voir sur la figure ci-dessous.

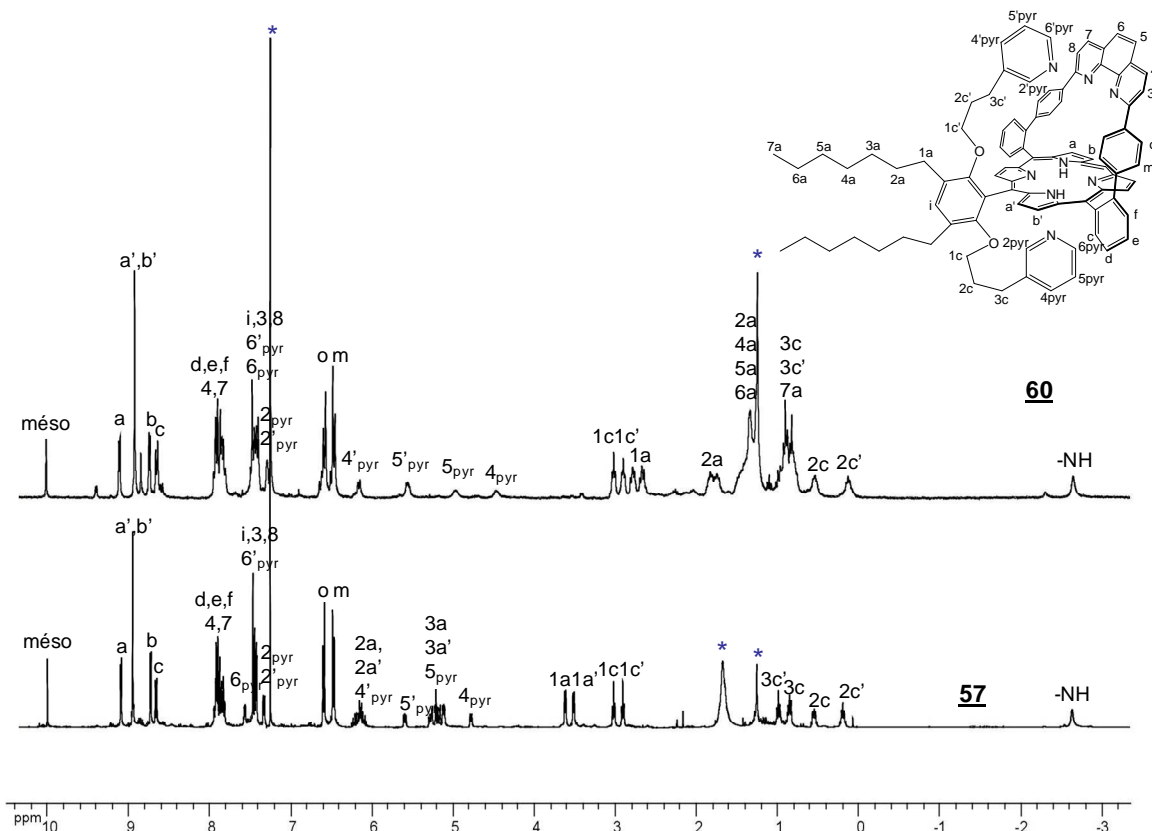


Figure 56 : spectre RMN ¹H de **57** et **60** dans du CDCl₃ à 400 MHz

III Complexation des ligands

III.1 Complexation du zinc

Les deux ligands **57** et **60** ont été métallés au zinc dans le but, d'une part, d'étudier leurs propriétés de coordination en solution et d'autre part, d'obtenir des monocristaux de qualité suffisante pour une étude par diffraction des rayons X.

L'insertion du zinc dans les deux ligands a été réalisée en présence d'un excès d'acétate de zinc dans le THF pour conduire aux deux complexes **57Zn** et **60Zn**. Après agitation à reflux pendant 3h le solvant est évaporé et les complexes ont été purifiés sur colonne de silice. Les deux porphyrines zinguées ont été isolées avec des rendements satisfaisants (99 % pour **57Zn** et 60% **60Zn**) puis elles ont été caractérisées par RMN. Des monocristaux exploitables par diffraction des rayons X ont été obtenus pour le complexe **57Zn**.

III.1.1 Caractérisation à l'état solide de 57Zn

Des monocristaux du complexe 57Zn ont été obtenus par diffusion lente d'heptane dans une solution concentrée de ce complexe dans le chloroforme. La structure cristallographique du complexe 57Zn (Figure 57) de formule brute $C_{84}H_{62}N_8O_2Zn(CHCl_3)_2H_2O$ révèle une entité moléculaire constituée du macrocycle porphyrinique de deux molécules de chloroforme et d'une molécule d'eau. Le complexe 57Zn cristallise dans le groupe d'espace P-1 du système triclinique avec les paramètres de la maille suivants : $a = 12,7416(3) \text{ \AA}$, $b = 13,0016(3) \text{ \AA}$, $c = 23,9379(7) \text{ \AA}$, $\alpha = 77,8380(10)$, $\beta = 86,0080(10)$, $\gamma = 68,139(9)$; $V = 3622,36 \text{ \AA}^3$.

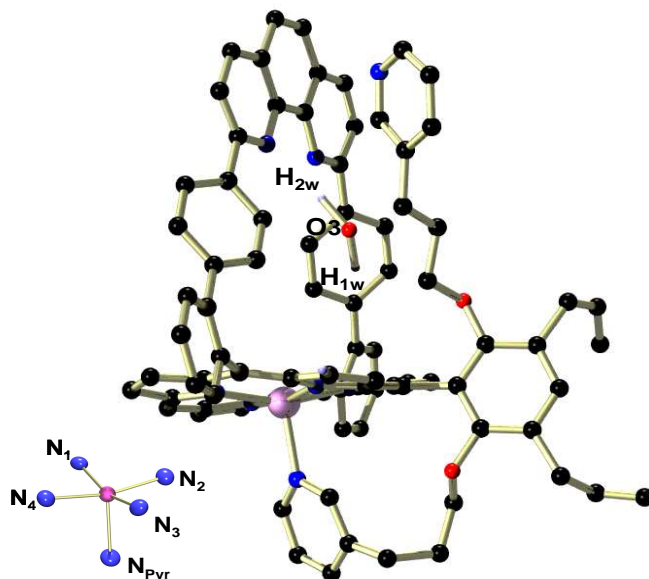


Figure 57 : structure cristallographique de 57Zn

La molécule d'eau présente dans la structure est liée par des liaisons hydrogènes aux deux azotes de la phénanthroline de l'anse avec les distances $d(N_8-H_{2w}) = 1,87(1) \text{ \AA}$, $d(N_7-H_{2w}) = 2,34(3) \text{ \AA}$, $d(H_{2w}-O_3) = 0,8619 \text{ \AA}$, $d(H_{1w}-O_3) = 0,8610 \text{ \AA}$. Cette interaction d'une molécule d'eau avec la phénanthroline a déjà été observée au laboratoire avec d'autres structures cristallographiques de complexes de la famille des porphyrines à anse phénanthroline.⁷⁸ L'étude de l'environnement du zinc montre que ce dernier est lié à cinq atomes d'azote, quatre provenant de la porphyrine et un de la pyridine en position proximale. La géométrie pentacoordinée autour du zinc est une pyramide à base carrée déformée et le macrocycle porphyrinique adopte une conformation « ruffled » (ondulée). La liaison zinc-

pyridine proximale ($d(\text{Zn-N}_5) = 2,166 \text{ \AA}$) sort l'atome de zinc du plan moyen formé par les quatre azotes de la porphyrine d'une distance $0,29 \text{ \AA}$. Le Tableau 2 donne les principales valeurs des distances (\AA) et des angles (degré) du complexe **57Zn**.

Principales valeurs des distances (\AA)			angles (degré)	
N1	Zn1	2,061(3)	N2-Zn1-N1	89,51(14)
N2	Zn1	2,057(3)	N3-Zn1-N1	159,96(13)
N3	Zn1	2,058(3)	N2-Zn1-N4	165,74(13)
N4	Zn1	2,078(3)	N3-Zn1-N4	87,98(13)
N5	Zn1	2,166(4)	N1-Zn1-N4	88,56(13)
O3	H1W	0,8790	N2-Zn1-N5	96,25(13)
O3	H1W	0,8610	N3-Zn1-N5	94,18(13)
			N1-Zn1-N5	105,85(13)
			N4-Zn1-N5	97,87(13)
			N2-Zn1-N3	89,01(13)
			H1W-O3-H2W	104,2

Tableau 2 : principales valeurs des distances (\AA) et des angles (degré) du complexe **57Zn**

III.1.2 Caractérisation des complexes **57Zn** et **60Zn** par RMN ^1H

Les complexes de zinc **57Zn** et **60Zn** ont été étudiés par spectroscopie RMN ^1H dans le chloroforme deutéré, à température ambiante et à 400 MHz. L'attribution des protons des complexes a été effectuée à l'aide des spectres COSY et ROESY obtenus dans les mêmes conditions. Le spectre COSY du complexe **57Zn** avec l'attribution des protons pyridiniques et méthyléniques des chaînes pendantes est représenté sur la figure ci-dessous.

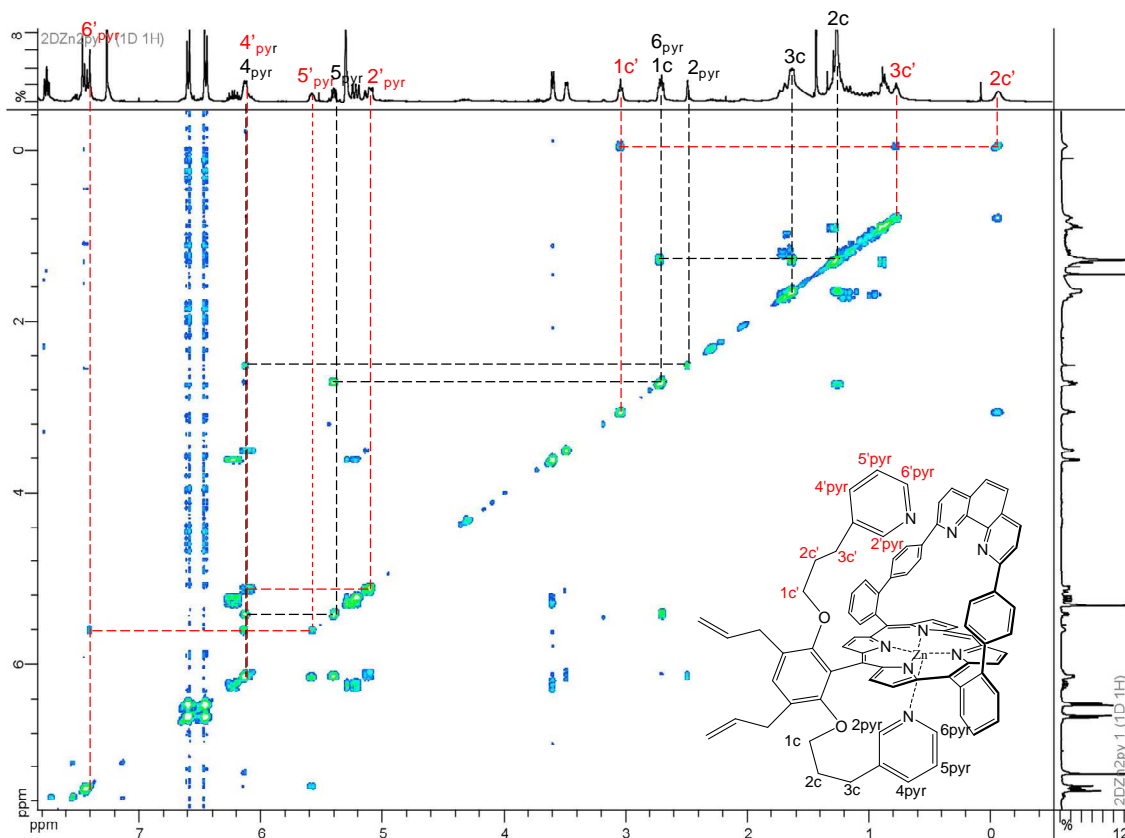


Figure 58 : carte RMN COSY (^1H - ^1H) de **57Zn** dans CDCl_3 à 400 MHz

La comparaison entre les spectres protons ^1H des bases libres et leurs complexes de zinc correspondants est un moyen très instructif pour la compréhension de la coordination des pyridines. En effet, la comparaison des déplacements chimiques des protons pyridiniques de la base libre et de son complexe de zinc permet de vérifier la coordination de l'azote de la pyridine sur le zinc par effet de courant de cycle.¹⁰⁰

Sur la Figure 59 nous avons représenté une comparaison des spectres RMN protons des complexes de **57Zn** et **60Zn** avec leurs bases libres correspondantes.

¹⁰⁰ a) Momenteau, M. ; Mispelter, J. ; Looock, B. ; Lhoste, J. –M. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1985**, 1493.
 b) Momenteau, M. ; Looock, B. ; Huel, C. ; Lhoste, J. –M. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1988**, 283.

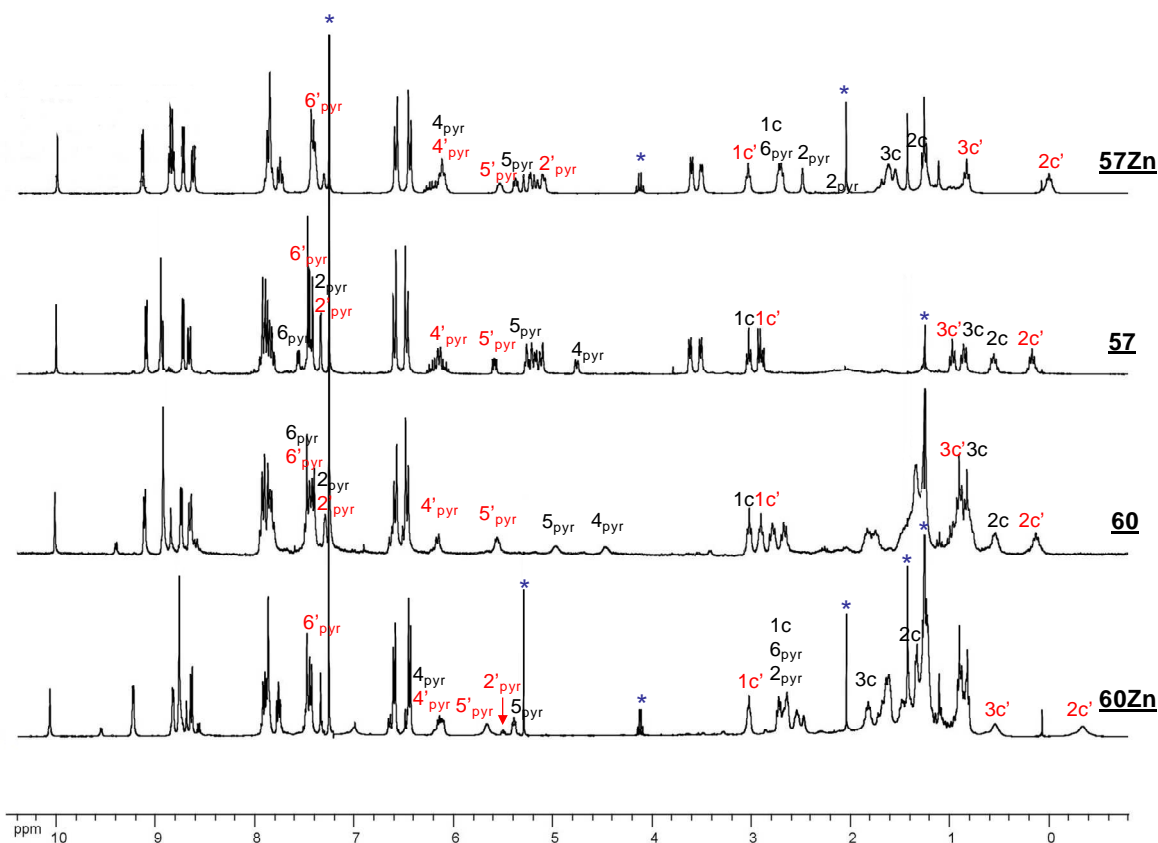


Figure 59 : spectres RMN ^1H de **60Zn**, **60**, **57** et **57Zn** dans du CDCl_3 à 400 MHz

Le premier constat qui peut être établi est que la métallation au zinc a eu peu d'impact sur les déplacements chimiques des protons benzyliques des bases libres et de leurs complexes. Les protons H_o et H_m des espaceurs phényles de l'anse qui sont de véritables sondes pour déterminer si une base se coordine sur la face distale, ne subissent presque aucun déplacement vers les champs forts,¹⁰¹ ce qui démontre déjà l'absence de coordination sur la face distale, dans l'anse phénanthroline. Les protons β pyrroliques H_a et H_b des bases libres qui apparaissent sous forme de doublets ($J_{\text{Ha}} = J_{\text{Hb}} = 4,7$ Hz pour **57** et $J_{\text{Ha}} = J_{\text{Hb}} = 4,5$ Hz pour **60**) subissent un déplacement vers les champs faibles après la métallation. Leur homologues $\text{H}_{a'}$ et $\text{H}_{b'}$ qui sont plus sensibles aux changements structuraux subissent eux un déplacement vers les champs forts. Dans les deux cas, la métallation a occasionné une perte de symétrie qui se manifeste par la transformation du singulet de a' et b' , en doublet-doublet. Les déplacements chimiques des protons allyliques restent quant à eux inchangés. Le tableau

¹⁰¹ a) Paul, D. ; Melin, F. ; Hirtz, C. ; Wytko, J. ; Ochsenbein, P. ; Bonin, M. ; Schenk, K. ; Maltese, P. ; Weiss, J. *Inorg. Chem.* **2003**, 42, 3779. b) Froidevaux, J. ; Ochsenbein, P. ; Bonin, M. ; Schenk, K. ; Maltese, P. ; Gisselbrecht, J. -P. ; Weiss, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 12362.

suivant récapitule les principaux déplacements chimiques qui nous ont permis d'identifier le noyau pyridinique coordinant.

	<u>57</u> (δ_1)	<u>57Zn</u> (δ_2)	$\Delta\delta = \delta_2 - \delta_1$	<u>60</u> (δ'_1)	<u>60Zn</u> (δ'_2)	$\Delta\delta' = \delta'_2 - \delta'_1$
H _{6pyr}	7,57	2,72-2,68	-4,85/-4,89	7,34/7,32	2,74/2,47	-4,62/-4,85
H _{2pyr}	7,34	2,48	-4,86	7,53/7,41	2,74/2,47	-4,79/-4,94
H _{4pyr}	4,79/4,77	6,27/6,05	1,48/1,28	5,18	6,16/6,10	0,98/0,92
H _{5pyr}	5,30/5,10	5,40/5,37	0,1/0,27	4,69	5,41/5,37	0,72/0,68
H _{1c}	3,02	2,72/2,68	-0,3/-0,34	3,03	2,74/2,47	-2,29/-0,56
H _{2c}	0,59/0,52	1,28/1,23	0,69/0,71	0,59/0,53	1,35/1,31	0,76/0,78
H _{3c}	0,88/0,83	1,64/1,61	0,76/0,78	1/0,82	1,84/1,81	0,84/0,99
H _{6'pyr}	7,45/7,42	7,44/7,40	0,01/0,02	7,53/7,41	7,48/7,43	-0,05/0,02
H _{2'pyr}	7,34	5,10	-2,24	7,34/7,32	5,50	-1,84/-1,82
H _{4'pyr}	6,65/6,07	6,27/6,05	-0,38/-0,02	6,18/6,16	6,16/6,10	-0,02/-0,06
H _{5'pyr}	5,61/5,58	5,57	-0,04/-0,01	5,60/5,56	5,67	0,07/0,11
H _{1c'}	2,91	3,03	0,12	2,89	3,03	0,14
H _{2c'}	0,23/0,16	-0,06	0,17/-0,22	0,22/0,13	-0,33	-0,55/-0,46
H _{3c'}	1,01/0,97	0,80/0,75	-0,21/-0,22	1/0,82	0,53	-0,47/-0,29

Tableau 3 : variation des déplacements chimiques due à la coordination de 57Zn et 60Zn (CDCl₃, 400MHz)

En s'intéressant aux composés 57 et 57Zn, au vu de ce tableau nous pouvons observer que les variations des déplacements chimiques ($\Delta\delta$) les plus importants concernent les protons situés en α de l'azote de la pyridine proximale H_{6pyr} ($-4,89 < \Delta\delta < -4,85$) et H_{2pyr} ($\Delta\delta = -4,86$). Ces protons subissent d'importants déplacements vers les champs forts qui sont dus à leur proximité au courant de cycle du noyau porphyrinique. Les fortes variations des déplacements chimiques simultanées des protons H_{6pyr} et H_{2pyr} sont caractéristiques de la coordination du noyau pyridinique. Les deux autres protons H_{4pyr} ($1,28 < \Delta\delta < 1,48$) et H_{5pyr} ($0,1 < \Delta\delta < 0,27$) subissent de faibles déplacements vers les champs faibles. Cette tendance est observée avec les protons de la chaîne alkyle portant la pyridine proximale à l'exception des H_{1c} ($-0,34 < \Delta\delta < -0,3$) qui subissent un faible déplacement vers les champs forts. Ces observations pourraient suggérer une faible modification du bras pyridinique proximal qui est préorienté vers le cycle porphyrinique avant la métallation. Concernant la pyridine distale le

fait le plus marquant est la forte variation des déplacements chimiques du proton en α $H_{2,pyr}$ ($\Delta\delta = - 2,24$) vers les champs forts tandis que l'autre proton en α $H_{6,pyr}$ ($0,01 < \Delta\delta < 0,02$) reste presque intact. Les autres protons $H_{4,pyr}$, $H_{5,pyr}$ et les protons $H_{3,c}$ des CH_2 benzyliques de la pyridine sont moins blindés avec des variations de déplacements chimiques inférieures à - 1 ppm. Ces observations indiquent d'une part l'absence d'interactions entre la pyridine distale et le zinc et d'autre part un basculement de la pyridine proximale vers la phénanthroline en raison de sa flexibilité qui peut être occasionnée par la déformation du cycle porphyrinique lors de la complexation de la pyridine proximale sur le zinc. Ainsi, le proton $H_{2,pyr}$ pourrait se trouver dans le cône d'anisotropie de la phénanthroline ce qui pourrait expliquer ce fort blindage. Ces résultats confirment l'environnement pentacoordiné autour du zinc dans le complexe **57Zn** comme cela a été observé à l'état solide. Cependant, l'interaction d'une molécule d'eau avec la phénanthroline observable à l'état solide n'est pas clairement établie par RMN. De même la proximité de l'hydrogène $H_{2,pyr}$ de l'environnement de la phénanthroline révélée par RMN n'est pas observé à l'état solide. Ces deux observations traduisent un léger changement structural entre l'état solide et celui en solution. Dans l'ensemble la corrélation entre la structure déduite de la RMN et celle obtenue à l'état solide est assez satisfaisante.

Dans le même registre, au vu du Tableau 3, nous pouvons remarquer que les variations des déplacements chimiques des protons pyridiniques et des protons des chaînes pendantes observées pour les composés **57** et **57Zn** sont du même ordre de grandeur que celles observées pour les composés **60** et **60Zn**. Cette comparaison suggère que les complexes **57Zn** et **60Zn** ont le même environnement géométrique autour du zinc. Ainsi le remplacement des chaînes allyles par la chaîne alkyles n'a pas, ou a peu d'influence sur la géométrie pentacoordinée autour de l'atome de zinc.

III.2 Complexation avec le fer

Nous venons de montrer que la complexation de nos ligands **57** et **60** par le zinc donnait des complexes **57Zn** et **60Zn** pentacoordinés dont la coordination axiale proximale est assurée par la pyridine située à l'opposé de l'anse. Il est essentiel de vérifier s'il en est de même dans le cas des complexes de fer.

III.2.1 Complexation du fer(III)

Nos ligands **57** et **60** ont été métallés au fer(III) en modifiant un procédé déjà décrit dans la littérature.¹⁰² La métallation a été réalisée dans le THF sous atmosphère d'argon par le chlorure ferreux en présence de 2,6-lutidine à reflux. Après une nuit de réaction, le milieu réactionnel est laissé sous agitation à l'air pendant une demi-heure à température ambiante afin d'oxyder la porphyrine de fer(II) formée en porphyrine de fer(III). Le mélange réactionnel est ensuite filtré directement sur un bouchon d'alumine. Le filtrat est évaporé et le solide obtenu est séché sous vide avant d'être repris au chloroforme puis traité par circulation de HCl gazeux. Le bullage a pour but de déplacer tout ligand exogène axial (en particulier hydroxyde) qui pourrait éventuellement se complexer avec la porphyrine de fer(III). Cette méthode nous a permis d'isoler les complexes de fer **[57Fe^{III}]Cl** et **[60Fe^{III}]Cl** avec de très bons rendements.

Dans la suite de ce paragraphe nous nous intéresserons au composé **[57Fe^{III}]Cl**. Les propriétés de coordination de ce dernier devraient pouvoir être transposées au complexe **[60Fe^{III}]Cl** comme cela a été observé dans le cas des complexes **57Zn** et **60Zn**.

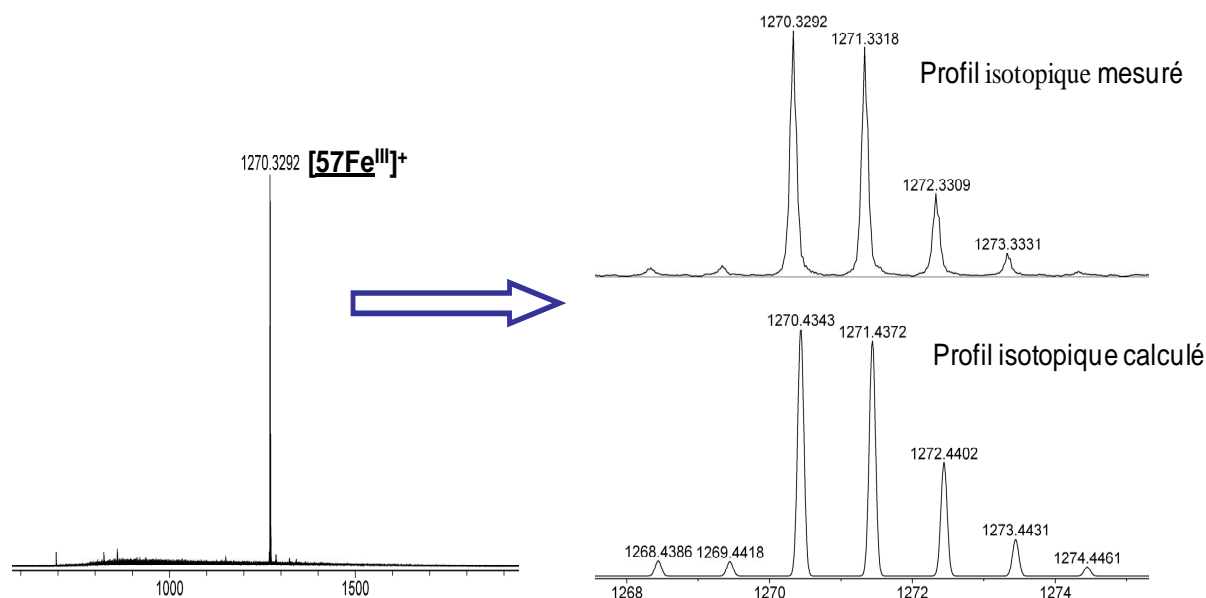


Figure 60 : spectre de masse « electrospray » à haute résolution de **[57Fe^{III}]Cl**

¹⁰² Weyermann, P. ; Gisselbrecht, J. -P. ; Boudon, C. ; Gross, M. ; Diederich, F. *Helv. Chim. Acta* **2002**, *85*, 571.

Le complexe $[^{57}\text{Fe}^{\text{III}}]\text{Cl}$ a été caractérisé par spectrométrie de masse à haute résolution utilisant la technique d'ionisation « electrospray ». Cette caractérisation nous a permis de mettre en évidence la pureté de notre complexe. En effet, le spectre de masse obtenu montre un seul pic correspondant à l'ion moléculaire $[^{57}\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ du complexe $[^{57}\text{Fe}^{\text{III}}]\text{Cl}$ qui aurait perdu l'ion Cl^- . La comparaison entre le profil isotopique calculé et le profil isotopique mesuré confirme notre argumentation comme nous pouvons le voir sur la Figure 60.

On constate en particulier l'absence de composé de type hydroxo comme tout autre ligand exogène axial. Bien que la pureté de notre complexe soit jugée satisfaisante nous ne sommes pas parvenus malgré plusieurs tentatives à obtenir des monocristaux de qualité pour effectuer une étude par diffraction aux rayons X. Ainsi, pour obtenir des informations sur l'environnement du fer(III), et particulièrement le nombre de coordinants axiaux, la caractérisation de son état de spin par spectroscopie RPE s'est révélée être une technique de choix.

III.2.1.1 Caractérisation par RPE

Le fer(III) comporte cinq électrons dans sa couche externe d, c'est un métal d^5 . Dans les substances paramagnétiques comme les porphyrines ferriques, le nombre de ligand axial et leur nature influencent considérablement l'état de spin et la valeur de g en RPE. En fonction, de la force du champ de ligands, l'ion ferrique peut présenter plusieurs états de spin dont les plus couramment rencontrés en biologie¹⁰³ sont l'état bas spin $S = 1/2$ et l'état haut spin $S = 5/2$, l'état de spin intermédiaire $S = 3/2$ étant le moins courant. Les occupations des orbitales d pour chacun de ces trois états sont représentées ci-dessous :

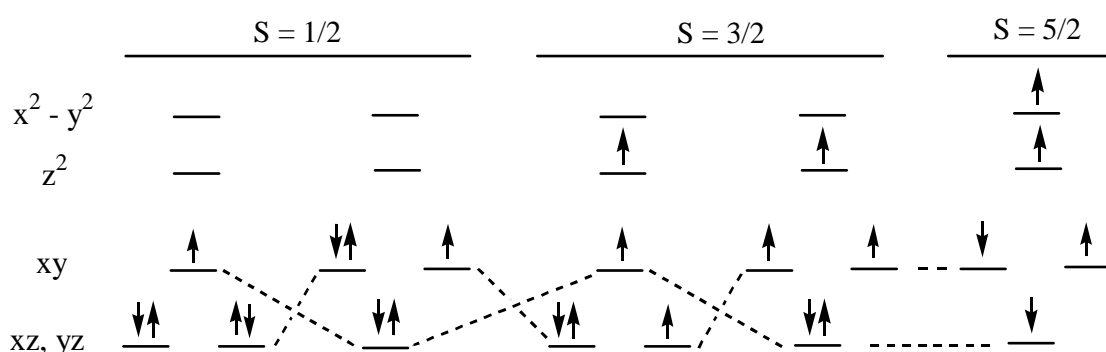


Figure 61 : configurations possibles du fer(III) dans les systèmes biologiques

¹⁰³ La Mar, G. N. ; Satterlee, J. D. ; De Ropp, J. S. NMR and EPR ; The Porphyrin Handbook, 2000, 5, 212 Ed. Kadish, K. M. ; Smith, K. M. ; Guilard, R. Academic Press.

L'état bas spin est généralement rencontré dans le cas d'espèces pentacoordinées ou hexacoordinées par des ligands à champ fort (imidazole, pyridine...) tandis que l'état haut spin est observé dans le cas d'espèces pentacoordinées par des ligands à champ faible (Cl⁻, Br⁻ ...).

Pour observer, caractériser et étudier ces états de spin de l'ion fer(III), la RPE est une technique particulièrement bien adaptée. Elle repose sur l'interaction entre un champ magnétique et un moment magnétique permanent d'origine électronique (effet Zeeman électronique). L'interprétation d'un spectre RPE nécessite la prise en compte de plusieurs interactions qui sont décrites à travers l'équation de l'hamiltonien de spin suivant :

$$\hat{H} = \mu_B \mathbf{B}_0 g \hat{S} + \sum \hat{S} A_N \hat{I}_N \quad \text{équation (1)}$$

Le premier terme correspond à l'interaction Zeeman, c'est-à-dire l'interaction entre le moment magnétique de l'électron et le champ externe (\mathbf{B}_0), induite par le spectromètre RPE. Elle entraîne une levée de dégénérescence de spin et l'apparition de deux niveaux d'énergie Zeeman différents (Figure 62).

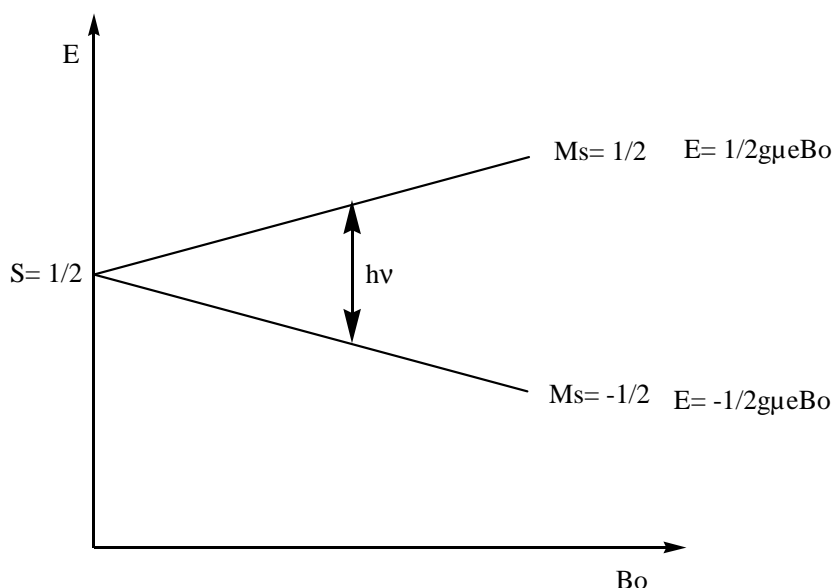


Figure 62 : effet du champ magnétique sur un système de spin électronique $S = 1/2$

Quand on applique, en plus du champ \mathbf{B}_0 , un autre champ \mathbf{B}_1 oscillant ou une fréquence ν correspondant à la séparation des deux niveaux d'énergie, une transition résonnante entre ces deux états se produit lorsque $E = h\nu = g\mu_e \mathbf{B}_0$ (h : constante de Planck, ν :

fréquence du spectromètre RPE, g : facteur de Landé ($g = 2,0023$ pour l'électron libre), B_0 champ magnétique, μ_B magnéton de Bohr ($\mu_B = 9,2740 \cdot 10^{-24}$). La règle de sélection qui gouverne cette transition est $\Delta M_s = \pm 1$. Le principe de la RPE repose sur la détection de cette transition.

Le tenseur g est caractéristique de l'environnement de l'électron. Il est directement lié à la symétrie du champ des ligands et provient du couplage spin-orbite.

Le second terme de l'équation (1) où A est la constante hyperfine relative à l'interaction hyperfine. Ce terme est indépendant du champ appliqué B_0 . C'est une interaction de contact entre le noyau et l'électron.

Lorsqu'une substance paramagnétique a un $S > 1/2$, il faut ajouter à l'équation (1) le terme $\hat{S}D\hat{S}$ qui prend en compte l'écart à champ nul D (« zero field splitting »).

Dans le cas des porphyrines de fer(III) haut spin de symétrie axiale l'écart à champ nul est très important. L'état de plus basse énergie $|\pm 1/2\rangle$ est séparé des autres états $|\pm 3/2\rangle$ et $|\pm 5/2\rangle$ d'environ 5 à 10 cm^{-1} . Ainsi, l'énergie apportée par le spectromètre ($\sim 3 \text{ cm}^{-1}$, ou $9,4 \text{ GHz}$) permet seulement d'observer la transition entre les états d'énergies $|\pm 1/2\rangle$ (Figure 63).¹⁰⁴

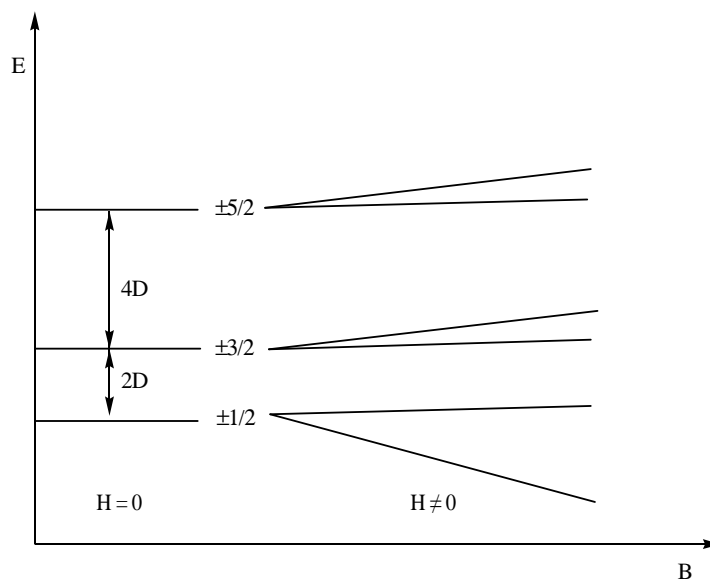


Figure 63 : diagramme d'éclatement des niveaux d'énergie pour un ion ferrique ($S = 5/2$)¹⁰⁵

Compte tenu de la symétrie axiale des porphyrines de fer(III) la détermination du tenseur g se ramène à la connaissance de $g_{//} = g_{zz}$ et $g_{\perp} = g_{xx} = g_{yy}$. Lorsque l'environnement de

¹⁰⁴ a) Brackett, G. C. ; Richards, P. L. *J. Chem. Phys.* **1971**, *54*, 4383. b) Krzystek, J. ; Ozarowski, A. ; Telsler, J. *Coord. Chem. Rev.* **2006**, *250*, 2308. c) Hagen, R. W. *Coord. Chem. Rev.* **1999**, *190-192*, 209.

¹⁰⁵ Tang, S. C. ; Koch, S. ; Papaefthymiou, G. C. ; Foner, S. ; Frankel, R. B. ; Ibers, J. A. ; Holm, R. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98*, 2414.

l'ion est plus déformé (rhomboédrique), on observe un éclatement de la région de g_{\perp} en deux composantes : $g_{xx} \neq g_{yy}$.

Les spectres RPE de nos composés (bande X, fréquence $\nu = 9,4$ Hz) ont été réalisés en collaboration avec les Drs Sylvie Choua et Maxime Bernard dans le laboratoire du Pr Philippe Turek à l'Institut de Chimie de Strasbourg. Le spectre du complexe $[57Fe^{III}]Cl$ a été enregistré en solution gelée à 4,2 K dans le dichlorométhane à une concentration $7,7 \cdot 10^{-4}$ M (Figure 64). Ce spectre est caractéristique d'un complexe de fer(III) haut spin ($S = 5/2$) pentacoordiné possédant une symétrie axiale. Ainsi, le spectre RPE ne reflète pas la dissymétrie de la porphyrine (axes x et y non équivalents en raison de la présence de l'anse). Les paramètres obtenus à partir de ce spectre sont les suivants : $g_{\parallel} = 2,05$ et $g_{\perp} = 5,89$. Ces paramètres confirment que le fer(III) se trouve dans la géométrie pentacoordinée déjà observée à l'état solide pour le complexe de zinc 57Zn (voir Figure 57).

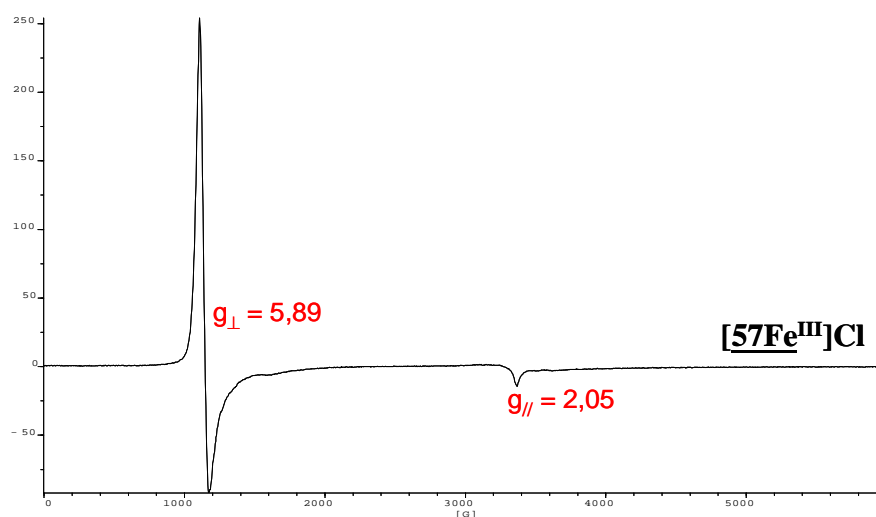


Figure 64 : spectre RPE du complexe $[57Fe^{III}]Cl$ dans le dichlorométhane $[c] = 7,7 \cdot 10^{-4}$ à 4,2 K

III.2.1.2 Étude de la coordination distale par des ligands exogènes

Une fois la géométrie pentacoordinée du complexe $[57Fe^{III}]Cl$ établie, nous avons étudié ses propriétés de coordination distale avec des ligands exogènes de type imidazole (imidazole, 2-méthylimidazole et N-méthylimidazole) suivies au moyen des spectroscopies UV-Visible et RPE.

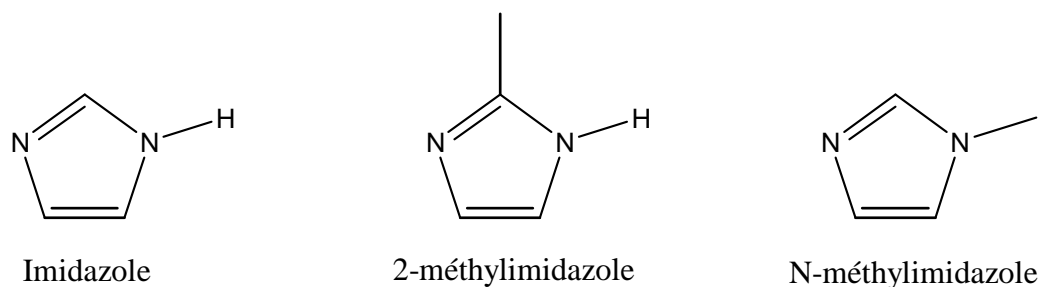


Figure 65 : ligands exogènes utilisés pour l'étude de coordination distale

III.2.1.2.1 Etude UV-Visible

Le dosage du récepteur $[57\text{Fe}^{\text{III}}]\text{Cl}$ en solution dans le dichlorométhane ($[c] = 7,7 \cdot 10^{-5} \text{M}$) a été réalisé à température ambiante par ajout successif de 0,1 équivalent d'une solution d'imidazole. L'évolution du spectre obtenu lors d'ajouts allant jusqu'à un équivalent d'imidazole est représentée sur la Figure 66. Au delà d'un équivalent d'imidazole ajouté, plus aucune évolution n'est observée.

L'addition de l'imidazole n'entraîne pas un déplacement de la bande de Soret à 421 nm mais plutôt une forte augmentation de sa densité optique avec un important effet hyperchrome. Les évolutions les plus importantes sont observées au niveau des bandes Q et des bandes de la phénanthroline. Les différents points isobestiques qui accompagnent ces transformations confirment la formation d'un nouveau composé. Au niveau des bandes Q la disparition de la bande à 512 nm, de l'épaule vers 653 nm et l'apparition d'une bande à 546 sont caractéristiques la formation d'une espèce hexacoordinée de fer(III). Ce comportement en UV-Visible des espèces hexacoordinées de fer(III) avec des bases azotées a été observé par F. Ann Walker *et al.* dans le cadre de l'étude de la réactivité de bases axiales de type imidazole et pyridine sur des dérivés de chlorure de tétraphénylporphyrine de fer(III) $[\text{TPPFe}^{\text{III}}]\text{Cl}$.¹⁰⁶ Au niveau de la phénanthroline, la disparition de la bande à 285 nm entraîne l'apparition de deux bandes à 273 et 307 nm. Cette modification a pour origine la formation de la liaison hydrogène bifurquée entre le proton porté par l'azote de l'imidazole et les deux azotes de la phénanthroline (voir Figure 66). Cette interaction confère une stabilité particulière à cet édifice ce qui peut expliquer qu'on n'observe aucune évolution après l'ajout d'un équivalent d'imidazole car le déplacement de son équilibre de formation vers le composé hexacoordiné est total.

¹⁰⁶ Walker, F. A. ; Lo, M.-W. ; Ree, M. T. *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, 98, 5552.

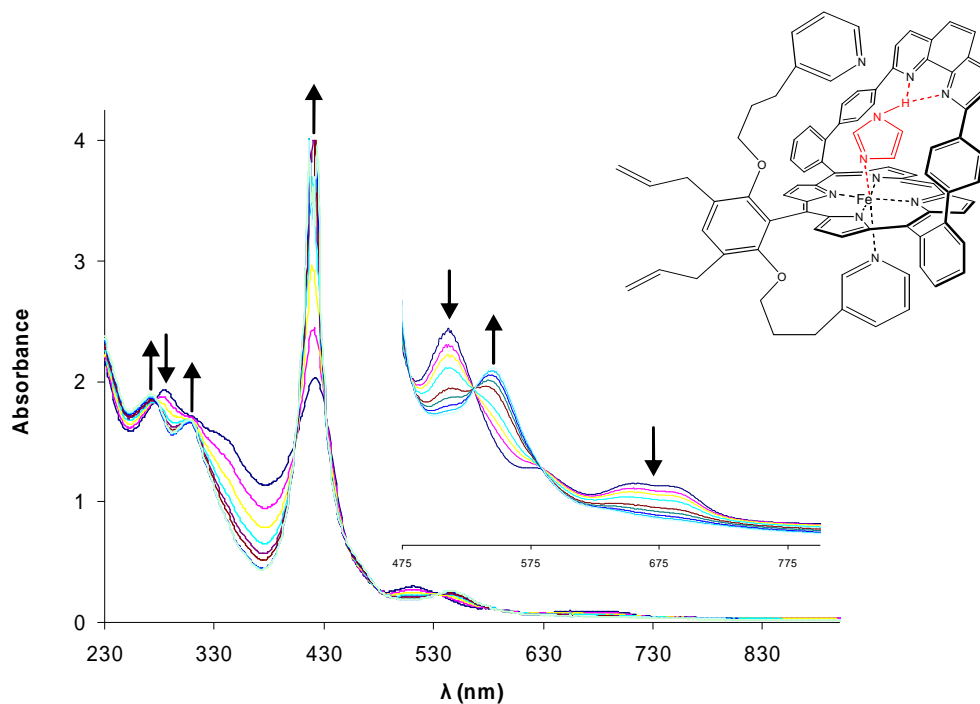


Figure 66 : dosage du complexe $[^{57}\text{Fe}^{\text{III}}]\text{Cl}$ par une solution d'imidazole dans le dichlorométhane

Dans les mêmes conditions que précédemment, une solution de $[^{57}\text{Fe}^{\text{III}}]\text{Cl}$ de concentration $2,02 \cdot 10^{-5}$ M a été dosée avec une solution de 2-méthylimidazole. L'évolution du spectre UV-Visible obtenue est représentée sur la figure Figure 67 ci-dessous.

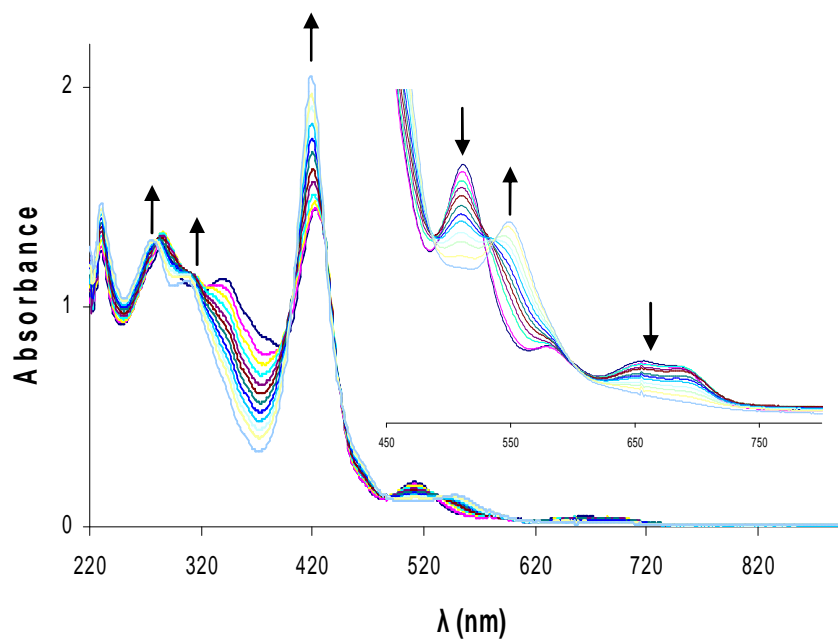


Figure 67 : dosage du complexe $[^{57}\text{Fe}^{\text{III}}]\text{Cl}$ par une solution de 2-méthylimidazole dans le dichlorométhane

L'allure des courbes obtenues avec le 2-méthylimidazole est identique à celles obtenues avec l'imidazole. On note toute fois, un léger déplacement vers le bleu de la bande de Soret (421→ 419 nm). Les deux bandes caractéristiques de la liaison hydrogène entre les deux azotes de la phénanthroline et le proton porté par l'azote de l'imidazole qui apparaissent à 274 et 307 nm sont moins prononcées que dans le cas de l'imidazole. Enfin, la bande caractéristique de la formation d'un complexe hexacoordiné apparaît à 548 nm.

Mais contrairement au titrage avec l'imidazole, l'évolution des spectres avec le 2-méthylimidazole est observée jusqu'à environ 2,5 équivalents. Cet excès peut s'expliquer par la déstabilisation créée par l'encombrement stérique du groupement méthyle dans le 2-méthylimidazole au contact du cycle porphyrinique. Cet encombrement peut être accentué par la géométrie du complexe. En effet, la coordination axiale de la pyridine peut faire sortir le fer(III) du plan moyen du cycle porphyrinique comme nous l'avons observé avec la structure à l'état solide du complexe de zinc. Ceci peut occasionner une déformation du cycle porphyrinique et une accessibilité plus difficile au site de coordination pour le 2-méthylimidazole comparé à l'imidazole. Cet effet de l'encombrement stérique du groupement méthyle des dérivés du 2-méthylimidazole, rendant impossible la coordination simultanée de deux 2-MeIm a d'ailleurs été largement utilisé par Collman *et al.* pour la formation sélective de modèles d'hémoglobines et de myoglobines pentacoordinées n'ayant d'autre possibilité que d'accepter un ligand exogène du type CO ou O₂.¹⁰⁷

¹⁰⁷ a) Collman, J. P. ; Gagne, R. R. ; Halbert, T. R. ; Marchon, J. C. ; Reed, C. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, 95,7868. b) Collman, J. P. ; Herrmann, P. C. ; Fu, L. ; Eberspacher, P. A. ; Eubanks, M. ; Boitrel, B. ; Hayoz, P. Zhang, X. ; Brauman, J. I. ; Day, V. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 3481.

Afin de compléter nos données, l'addition de N-méthylimidazole au complexe $[57\text{Fe}^{\text{III}}]\text{Cl}$ de concentration $7,7 \cdot 10^{-5}$ M dans le dichlorométhane à température ambiante a également été suivie par spectroscopie UV-Visible (Figure 68).

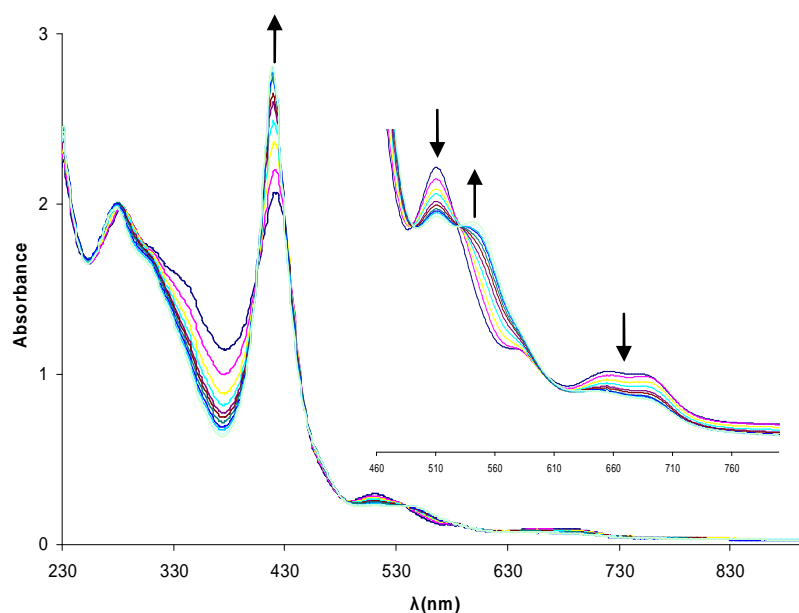


Figure 68 : dosage du complexe $[57\text{Fe}^{\text{III}}]\text{Cl}$ par une solution de N-méthylimidazole dans le dichlorométhane

Comparé aux deux cas précédents, le dosage avec le N-méthylimidazole n'entraîne aucune évolution relative au niveau de la bande à 284 nm de la phénanthroline. Cette observation confirme la formation des liaisons hydrogène dans le cas des imidazoles non N-substitués. De même nous n'avons pas observé de déplacement de la bande de Soret à 421 nm. L'évolution du reste du spectre (bandes Q) est identique aux deux cas précédents, ce qui suggère la formation d'une espèce hexacoordinée avec le N-méthylimidazole, et ce malgré l'absence des liaisons hydrogène. Enfin nous n'avons pas observé de modifications du spectre après l'ajout de 2 équivalents de base.

III.2.1.2.2 *Etude RPE*

Nous avons voulu confirmer la formation des espèces hexacoordinées observées en UV-Visible pour les ligands exogènes en utilisant la spectroscopie RPE. L'addition des ligands exogènes au complexe $[57\text{Fe}^{\text{III}}]\text{Cl}$ dans le dichlorométhane se fait à température ambiante. Les spectres RPE sont enregistrés en solution gelée à 4,2 K en bande X ($\nu = 9,4$ GHz). Les spectres obtenus avec l'imidazole sont représentés sur la figure suivante.

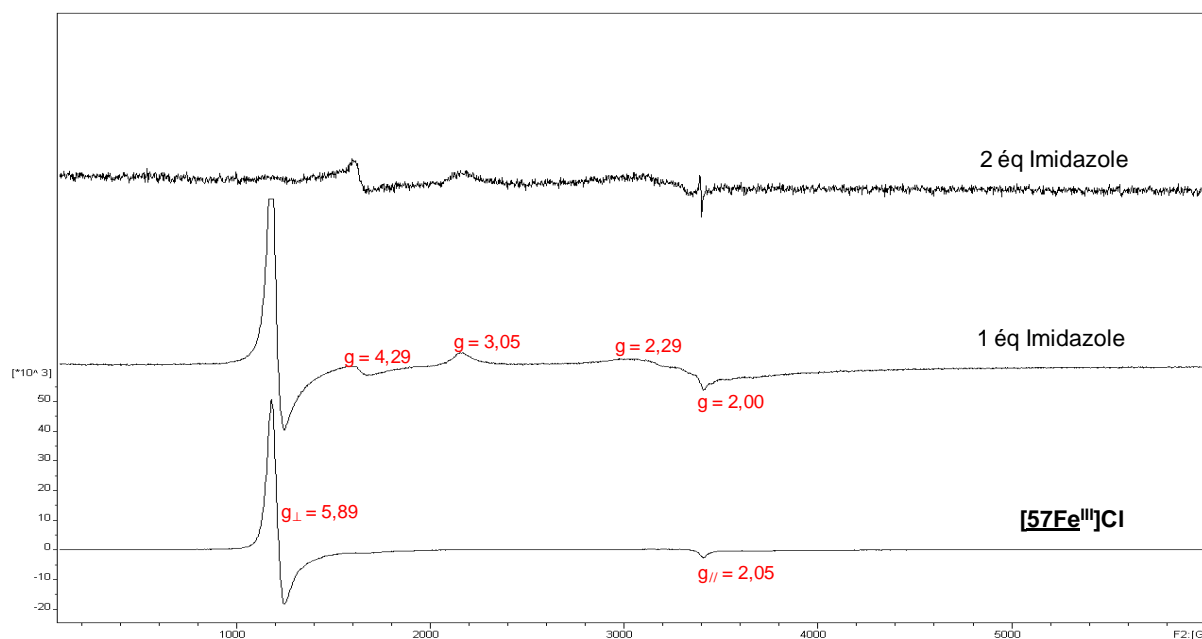


Figure 69 : évolution du spectre RPE de $[^{57}\text{Fe}^{\text{III}}]\text{Cl}$ dans le dichlorométhane en présence de 1 et 2 équivalents d'imidazole à 4,2 K

L'addition d'un équivalent d'imidazole fait apparaître en plus des signaux initiaux ($g_{\perp} = 5,89$ et $g_{\parallel} = 2,05$) correspondant au complexe de fer(III) haut spin, de nouveaux signaux ($g = 4,29$ et $g = 2,00$) qui sont attribués au complexe de Fe(III) de spin intermédiaire $S = 3/2$.¹⁰⁸ La disparition totale des signaux haut spin est observée après l'addition de 2 équivalents d'imidazole.

Dans le même registre l'addition d'un équivalent de 2-méthylimidazole fait à peine apparaître les signaux d'une nouvelle espèce (Figure 70). Cependant, dès l'addition de 3 équivalents de 2-méthylimidazole nous observons la disparition des signaux du fer(III) haut spin et l'apparition de nouveaux signaux ($g = 3,05$ et $g = 2,29$) attribués au complexe de fer(III) bas spin $S = 1/2$ de symétrie rhombique.¹⁰⁹ Ainsi, dans ces deux cas, la RPE confirme la formation de complexes hexacoordinés de fer(III) avec les deux ligands exogènes (imidazole et 2-méthylimidazole).

¹⁰⁸ a) Yatsunyk, L. A. ; Walker, F. A. *Inorg. Chem.* **2004**, *43*, 757.

b) Walker, F. A. ; Reis, D. ; Balke, V. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 6888.

¹⁰⁹ Yatsunyk, L. A. ; Shokhirev, N. V. ; Walker, F. A. *Inorg. Chem.* **2005**, *44*, 2848.

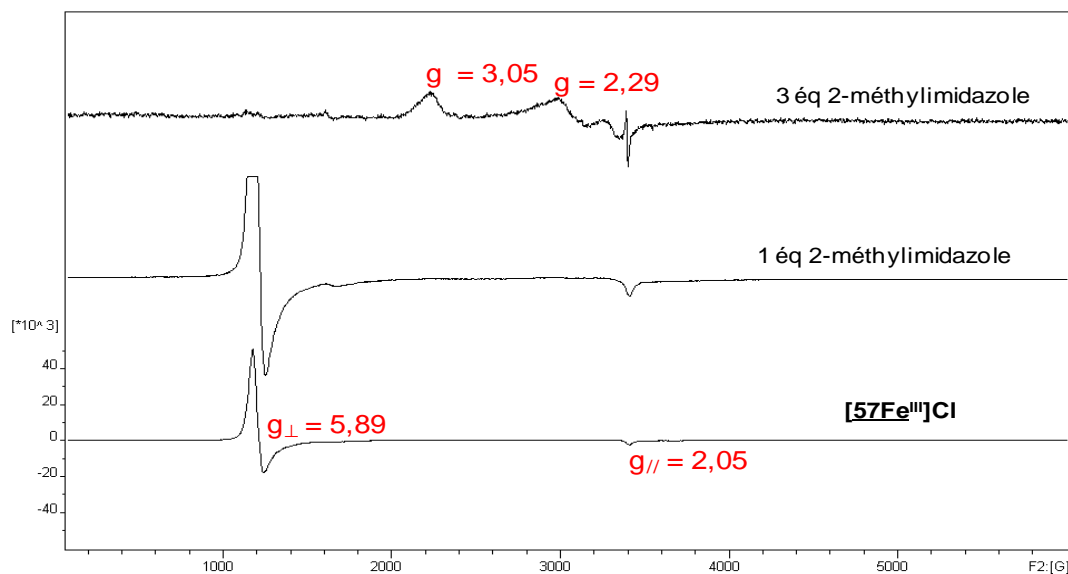


Figure 70 : évolution du spectre RPE de $[^{57}\text{Fe}^{\text{III}}]\text{Cl}$ dans le dichlorométhane en présence de 1 et 3 équivalents de 2-méthylimidazole à 4,2 K

Par ailleurs, les résultats RPE obtenus avec le N-méthylimidazole confirment aussi la formation d'un complexe hexacoordiné de fer(III) comme l'illustre la Figure 71. En effet, après ajout de 3 équivalents de N-méthylimidazole on note la présence de plusieurs signaux caractéristiques de trois espèces : une espèce bas spin, une seconde de spin intermédiaire et la dernière de haut spin correspond au complexe de fer(III) de départ. La disparition de cette dernière est observée au bout de 15 équivalents de N-méthylimidazole ajoutés. Mais contrairement aux deux cas précédents, le complexe hexacoordiné obtenu N-méthylimidazole est un mélange de bas spin $S = 1/2$ et de spin intermédiaire $S = 3/2$.

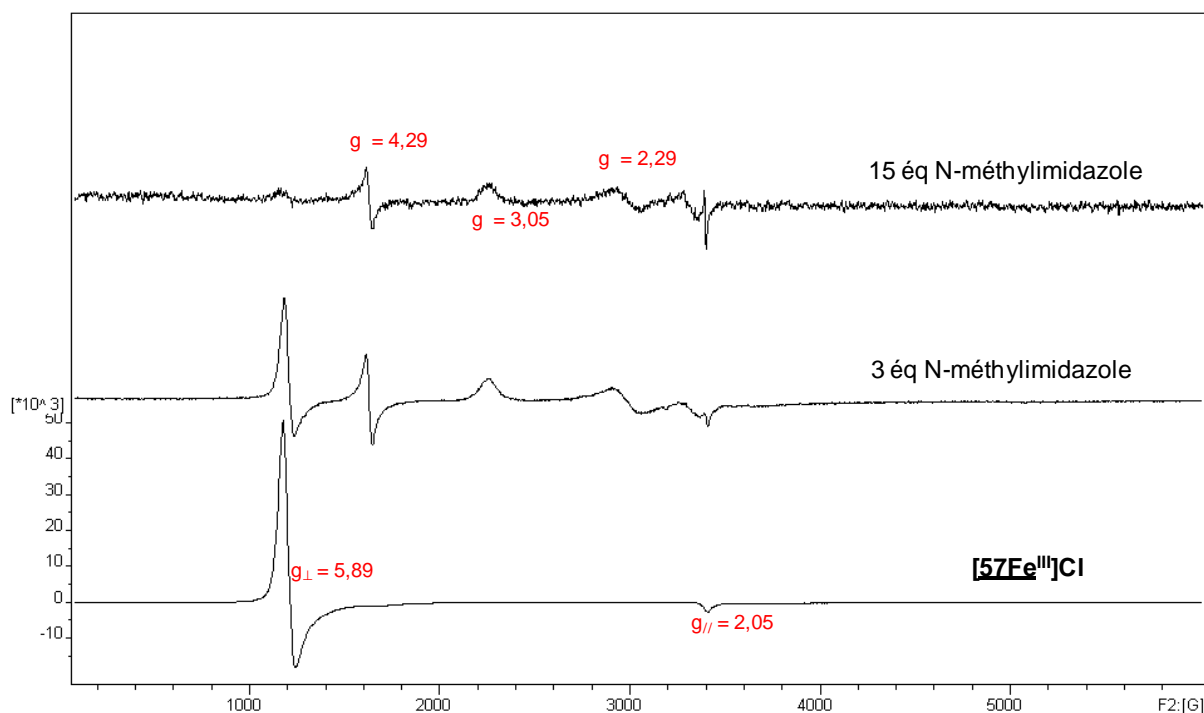


Figure 71 : évolution du spectre RPE de $[^{57}\text{Fe}^{\text{III}}]\text{Cl}$ dans le dichlorométhane en présence de 3 et 15 équivalents de N-méthylimidazole à 4,2 K

Enfin, il est intéressant de noter que les complexes hexacoordinés formés à partir de nos trois ligands exogènes sont déjà présents bien avant l'addition d'un équivalent de ligands, même s'il faut ajouter plusieurs équivalents pour que la complexation soit complète.

La détermination des constantes d'association avec les trois ligands exogènes de type imidazoles est en cours dans le laboratoire de Physico-Chimie Bioinorganique du Dr Anne-Marie Albrecht-Gary à Strasbourg.

IV Conclusion

Dans ce chapitre nous avons étudié la formation de complexes de zinc et de fer à partir de nos ligands. Les complexes de zinc ont été caractérisés en solution en combinant plusieurs séquences RMN. La comparaison entre les déplacements chimiques des protons pyridiniques et des protons des chaînes pendantes nous a permis de démontrer sans équivoque qu'un seul des deux bras pyridiniques était impliqué dans la complexation axiale du zinc. Ces résultats ont été confirmés à l'état solide par l'obtention d'une structure cristallographique avec le complexe **57Zn**. En effet, la structure cristallographique révèle une géométrie pentacoordinée autour du zinc où l'atome de zinc est décalé de 0,29 Å du plan moyen de la porphyrine du côté proximal « ouvert ». Cette géométrie pentacoordinée a aussi été obtenue à partir d'une

détermination de la géométrie des complexes de fer(III) effectuée à l'aide de la RPE. Cette étude RPE a été complétée par la mise en évidence de la formation de complexes hexacoordinés résultant de la fixation de ligands exogènes de types imidazole suivie par UV-Visible et RPE. Ces deux études combinées ont montré la formation de complexes hexacoordinés avec des états de spins différents, variant en fonction du caractère basique ou encombré du ligand exogène.

CHAPITRE IV :

Réactivité avec le dioxygène et études électrochimiques des modèles de cytochrome c oxydase

Chapitre IV : Réactivité avec le dioxygène et études électrochimiques des modèles de cytochrome c oxydase

I Introduction

Comme nous l'avons déjà vu dans le chapitre introduction bibliographique, un des intérêts majeurs des modèles de cytochrome *c* oxydase réside dans la production d'analogues d'intermédiaires oxygénés formés au cours du cycle catalytique de la réduction de l'oxygène moléculaire en eau. Ainsi, l'étude de la réactivité des modèles de la forme réduite (état natif) avec le dioxygène est une étape très importante pour valider qu'un complexe est un modèle de cytochrome *c* oxydase. Cette dernière partie de notre manuscrit sera alors consacrée à l'étude de la réactivité de notre modèle vis-à-vis de l'oxygène moléculaire. Deux techniques seront particulièrement utilisées pour les caractériser. La spectrophotométrie UV-Visible permet de connaître les transitions électroniques dans le complexe ferreux et d'accéder aux informations sur la coordination du dioxygène. L'électrochimie permet de connaître les propriétés rédox de notre modèle, non seulement en termes de potentiel rédox du site fer(III/II) mais aussi en termes de réactivité électrocatalytique.

II Etude de la réactivité du complexe de fer(II) [$^{57}\text{Fe}^{\text{II}}$] avec le dioxygène par UV-Visible

II.1 Le fer(II) dans les porphyrines

Le fer(II) comporte six électrons dans sa couche externe *d*. Contrairement aux porphyrines de fer(III), les porphyrines de fer(II) peuvent être diamagnétiques ou paramagnétiques suivant la configuration des électrons dans la couche externe *d*. Cette configuration des électrons *d* dans les porphyrines de fer(II) est dictée par la nature du champ des ligands et le nombre de coordinaux axiaux. Les trois états de spin rencontrés avec les porphyrines de fer(II) sont représentés sur la Figure 72 ci-dessous .

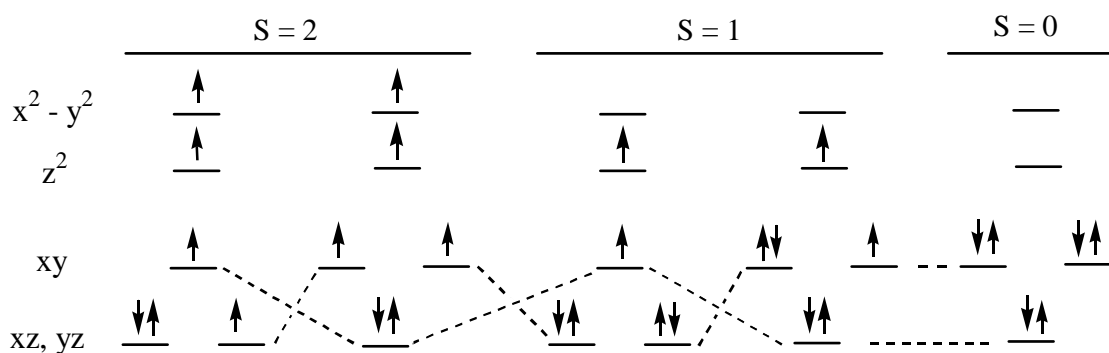


Figure 72 : états de spin d'une porphyrine de fer(II)

Le fer(II) haut spin $S = 2$, paramagnétique, est de loin la plus importante forme hémique. Il résulte en général d'une pentacoordination du noyau porphyrinique de fer(II) avec un ligand axial à champ faible. Le fer(II) haut spin est la forme utilisée par l'hémoglobine et la myoglobine pour fixer l'oxygène de manière réversible. En RMN du proton, les porphyrines de fer(II) pentacoordiné haut spin présentent des spectres dont les déplacements chimiques sont compris entre 0 et 150 ppm. Mais la caractéristique principale des ces spectres est l'existence d'une signature typique entre 50 et 60 ppm où on note la présence de signaux correspondant à la résonance des protons β pyrroliques.¹¹⁰

L'état de spin $S = 0$ du fer(II) est rencontré dans les porphyrines de fer(II) hexacoordiné. Il peut résulter de l'ajout de ligands à champs faible comme l'oxygène, le monoxyde de carbone ou l'imidazole (et ses dérivés non N-substitués) sur un complexe pentacoordiné de fer(II). Ces composés diamagnétiques présentent des spectres RMN classiques entre 0 et 12 ppm.

Enfin, l'état de spin intermédiaire $S = 1$ est caractérisé dans les porphyrines de fer(II) sans ligand axial.¹¹¹

Les relations entre état de spin et géométrie autour du fer(II) font de la RMN une technique de choix pour la caractérisation des porphyrines de fer(II).

Une autre technique très importante pour la caractérisation des ferroporphyrines est sans aucun doute la spectroscopie UV-Visible. En effet on peut déterminer l'état de spin suivant la morphologie du spectre (nombre, intensité, maximum d'absorbance des bandes d'absorption). Ainsi les porphyrines de fer(II) tétracoordiné de spin $S = 1$ présentent une double bande de Soret vers 420 et 440 nm. Les porphyrines de fer(II) pentacoordiné de spin S

¹¹⁰ Goff, H. ; La Mar, N. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 99, 6599.

¹¹¹ Boyd, P. D. W. ; Buckingham, D. A. ; McMeeeking, R. F. ; Mitra, F. *Inorg. Chem.* **1979**, 18, 3585.

= 2 présentent une bande de Soret vers 440 nm et enfin les porphyrines de fer(II) hexacoordiné de spin $S = 0$ présentent une bande de Soret vers 420 nm.¹¹²

Notre complexe de départ $[57\text{Fe}^{\text{III}}]\text{Cl}$ étant un complexe de fer(III), donc inactif vis-à-vis du dioxygène, il est évident que la première partie de ce travail consiste à trouver un système adéquat qui nous permettrait de former le complexe de fer(II) $[57\text{Fe}^{\text{II}}]$ correspondant et de suivre toute l'expérience par spectroscopie UV-Visible. Le complexe $[57\text{Fe}^{\text{II}}]$ est obtenu par réduction du complexe $[57\text{Fe}^{\text{III}}]\text{Cl}$ par une solution aqueuse d'hydrosulfite de sodium (dithionite de sodium ou $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$).¹¹³ Cette réaction est réalisée *in situ* dans une cellule UV-Visible conçue pour la manipulation en atmosphère contrôlée.

II.2 Le dispositif expérimental

Afin d'éviter toute interaction avec le dioxygène de l'air, les mesures en UV-Visible ont donc été réalisées dans une cellule spécialement aménagée pour travailler sous atmosphère inerte (Figure 73).

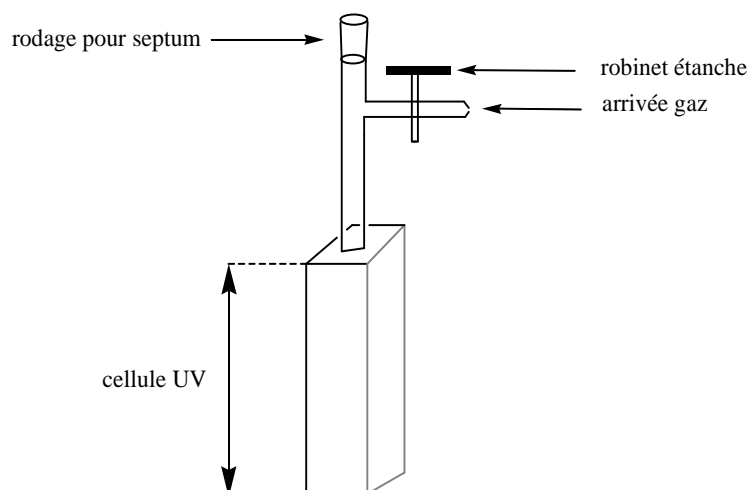


Figure 73 : cellule UV-Visible spéciale de type Schlenk

II.3 Conditions opératoires

La réduction du complexe $[57\text{Fe}^{\text{III}}]\text{Cl}$ a été réalisée sous atmosphère d'argon en milieu biphasique eau/dichlorométhane. Deux solutions distinctes ont été préparées : la

¹¹² Ruzié, C. *Thèse Université Rennes 1*, 2005.

¹¹³ Weyermann, P. ; Diederich, F. *Helv. Chem. Acta* 2002, 85, 599.

solution de $[^{57}\text{Fe}^{\text{III}}]\text{Cl}$ dans le dichlorométhane, et la solution saturée d'hydrosulfite de sodium dans l'eau. Les deux solutions sont refroidies à -78°C (mélange carboglace/acétone) puis dégazées chacune par trois cycles successifs de vide d'argon pour enlever toute trace d'oxygène. Une fois revenue à température ambiante, la solution d'hydrosulfite de sodium est transférée via une canule à la solution de porphyrine de fer(III) qui se trouve dans la cellule UV-Visible de type Schlenk. Les deux phases sont vigoureusement agitées pendant quelques minutes. La solution de porphyrine de fer(III) brun au départ vire au rouge-orangé confirmant la formation de la porphyrine de fer(II). Les deux phases se séparent par décantation. Une fois la séparation totale des deux phases obtenue, les mesures UV-Visible à température ambiante sont effectuées.

Une série de mesures qualitatives a été réalisée en spectrophotométrie UV-Visible pour déterminer l'affinité des différents complexes formés à partir de notre modèle pour le dioxygène et le monoxyde de carbone. Ces études permettent aussi d'avoir une idée sur la réversibilité de notre système. Il faut noter que les valeurs d'absorbances enregistrées dans ces expériences ne reflètent pas la réalité à cause du manque d'homogénéité des solutions.

III Résultats et discussions

III.1 Expérience test

La première expérience que nous avons réalisée est résumée sur la figure ci-dessous.

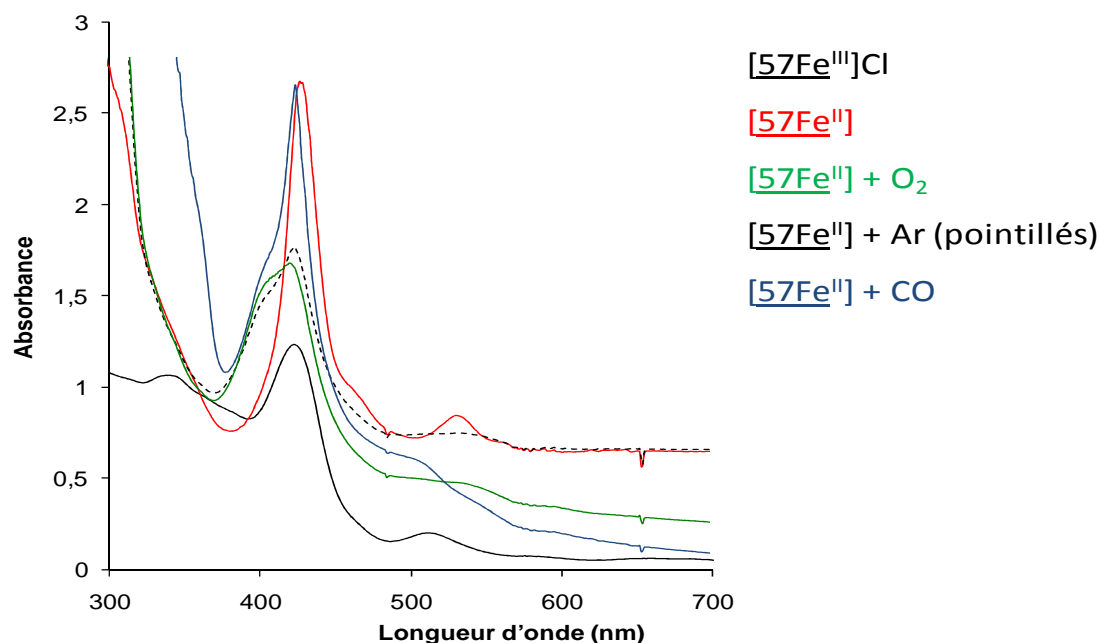


Figure 74 : étude de la fixation du dioxygène sur le complexe $[^{57}\text{Fe}^{\text{II}}]$

La courbe noire correspond à la solution du complexe $[^{57}\text{Fe}^{\text{III}}]\text{Cl}$ dans le dichlorométhane avec la bande de Soret à 421 nm et la bande Q à 512 nm. En ajoutant, une quantité donnée de solution saturée en dithionite de sodium, nous observons un déplacement bathochrome de la bande de Soret de 421 à 427 nm et de la bande Q de 512 à 535 nm avec un important effet hyperchrome. Cette évolution traduit la formation du complexe de fer(II) $[^{57}\text{Fe}^{\text{II}}]$ (courbe rouge). Après avoir introduit de l'oxygène par courant gazeux (bullage) dans cette dernière solution pendant quelques minutes, on ne note aucun déplacement significatif de la bande de Soret mais plutôt une diminution de sa densité optique (courbe verte). Pour vérifier s'il s'agit d'un composé d'oxydation ou d'un composé d'oxygénation nous avons procédé à une première purge par barbotage d'argon. Dans ce cas la courbe obtenue (courbe en pointillés) ne montre aucun changement significatif comparé à la courbe du composé $[^{57}\text{Fe}^{\text{II}}]$ sous atmosphère d'oxygène (courbe verte). Enfin, nous avons vérifié que le composé de fer(II) ne s'était pas dégradé pour une raison inconnue en confirmant que le site de coordination du fer(II) restait disponible. Cette vérification s'effectue en faisant barboter du monoxyde de carbone dans la solution (courbe bleue). Le choix du monoxyde de carbone s'explique par son affinité particulière avec les ferroporphyrines. Ainsi avec le monoxyde de carbone nous observons une augmentation de la densité optique de la bande de Soret jusqu'à la hauteur de celle du $[^{57}\text{Fe}^{\text{II}}]$ avec un faible déplacement hypsochrome d'environ 2 nm.

Deux résultats importants sont mis en évidence dans cette expérience test.

Le premier concerne la géométrie du complexe $[^{57}\text{Fe}^{\text{II}}]$. En effet, jusqu'à présent les études que nous avons menées sur le complexe de zinc (^{57}Zn) et le complexe de fer(III) ($[^{57}\text{Fe}^{\text{III}}]\text{Cl}$) nous ont montré une géométrie pentacoordinée autour du métal. Ainsi, en effectuant cette expérience nous avons fait l'hypothèse que le complexe de fer(II) adopterait également la géométrie pentacoordinée comme nous l'avons observée avec les deux métaux précédents. Dans ce cas, la fixation de l'oxygène se ferait dans la sixième position vacante ce qui permettrait d'obtenir un complexe hexacoordiné avec l'oxygène comme sixième ligand. La fixation de l'oxygène se traduit en général par un affaissement et un déplacement de la bande de Soret vers le bleu ce qui n'est pas observé dans cette expérience. Ce résultat n'est pas exactement en accord avec notre hypothèse de départ, ce qui exclut éventuellement la géométrie pentacoordinée avec le complexe de fer(II), ou suggère un accès au sixième site de coordination difficile.

L'hypothèse dans laquelle le complexe $[^{57}\text{Fe}^{\text{II}}]$ aurait une géométrie hexacoordinée autour du fer(II) pourrait s'expliquer par l'implication du deuxième bras pyridinique dans la complexation du fer(II). Ce bras était libre dans les complexes $[^{57}\text{Fe}^{\text{III}}]\text{Cl}$ comme l'ont montré l'obtention d'un spectre haut spin pentacoordiné en RPE et la coordination d'imidazoles dans l'anse. La coordination de ce bras sur le fer(II) après réduction expliquerait que la fixation de l'oxygène soit plus difficile, en accord avec les observations de la Figure 74 (courbes verte et en pointillés). Par contre la différence de densité optique observée entre les courbes de l'oxygénation (verte), de désoxygénation (en pointillés) et la courbe du complexe de fer(II) (rouge) semble difficile à rationaliser dans nos conditions opératoires. Il semblerait que l'oxygène se fixe seulement partiellement ou avec une cinétique extrêmement lente.

La coordination lente et inefficace de l'oxygène peut également trouver son explication dans la présence d'une molécule d'eau de coordination sur le site distal. Cette hypothèse et ses effets sur la cinétique de fixation de l'oxygène viennent d'être mis en évidence par Collman.¹¹⁴ Notre mode opératoire utilisant la génération de fer(II) *in situ* par une solution aqueuse de dithionite est certainement en accord avec la possibilité d'un sixième site de coordination du fer(II) hydraté. Notons que cette coordination d'eau et l'hexacoordination du fer n'empêchent pas l'observation d'états paramagnétiques du fer(II). Dans l'état actuel des choses, aucun élément ne permet de conclure sur la gêne à la coordination de l'oxygène moléculaire dans le complexe de fer(II).

Le second résultat mis en évidence dans cette expérience est la labilité d'un des deux bras pyridiniques du complexe $[^{57}\text{Fe}^{\text{II}}]$ en présence de monoxyde de carbone. En effet dans l'hypothèse de l'hexacoordination du complexe $[^{57}\text{Fe}^{\text{II}}]$ tous les sites de coordinations de fer(II) sont occupés ce qui rend normalement impossible la coordination du monoxyde de carbone. Ainsi, les changements observés lors de la carbonylation ne peuvent être dus qu'à la décooordination d'un des bras pyridiniques permettant alors la fixation du monoxyde de carbone.

Au vu de ces résultats et hypothèses il nous a semblé primordial d'étudier et caractériser le complexe de fer(II) par d'autres méthodes. La caractérisation par RMN des différents états du fer(II) dans notre ligand et le suivi de sa carbonylation ont ainsi été effectués dans le cadre d'une collaboration ANR avec le groupe du Dr. Bernard Boitrel à Rennes.

¹¹⁴ Collman, J. P. ; Decréau, R. A. ; Dey, A. ; Yang, Y. *PNAS* **2009**, *106*, 4101.

III.2 Synthèse, caractérisation et réactivité du complexe $[57\text{Fe}^{\text{II}}]$

Les expériences de cette partie ont été réalisées par le Dr Samia Zrig post docteur au laboratoire du Dr Bernard Boitrel à l'Université de Rennes 1.

III.2.1 Synthèse du complexe $[57\text{Fe}^{\text{II}}]$

Le complexe $[57\text{Fe}^{\text{II}}]$ est obtenu par insertion du fer(II) sur le ligand **57**. Cette métallation se fait en boîte à gants. Le ligand **57** est dissous dans du THF sec et désoxygéné en présence d'un excès de bromure ferreux puis mis sous agitation à reflux pendant une nuit. Après évaporation du solvant, la porphyrine de fer(II) obtenue est purifiée par chromatographie sur une plaque préparative de silice à l'extérieur de la boîte à gants. La porphyrine de fer(III) ainsi obtenue est caractérisée par une bande de Soret à 525 nm et une bande Q à 509 nm dans le toluène ($[57\text{Fe}^{\text{III}}]\text{Br}$, figure IV-4). La porphyrine de fer(III) dissoute dans le toluène est alors réduite en porphyrine de fer(II) $[57\text{Fe}^{\text{II}}]$ en utilisant une solution aqueuse de dithionite de sodium dans la boîte à gants. Le succès de la réduction est confirmé par spectroscopie UV-Visible (Figure 75).

III.2.2 Caractérisation du complexe $[57\text{Fe}^{\text{II}}]$

Le complexe $[57\text{Fe}^{\text{II}}]$ a été d'abord caractérisé par spectroscopie UV-Visible. Le spectre UV-Visible du complexe $[57\text{Fe}^{\text{II}}]$ comparé au spectre de son précurseur (la porphyrine de fer (III) $[57\text{Fe}^{\text{III}}]\text{Br}$) est représenté sur la figure ci-dessous.

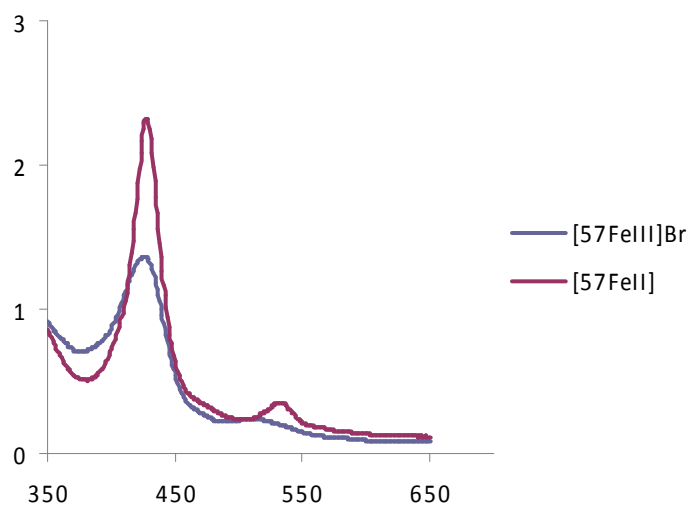


Figure 75 : spectres UV-Visible de $[57\text{Fe}^{\text{III}}]\text{Br}$ et $[57\text{Fe}^{\text{II}}]$ dans le toluène

Le complexe $[57\text{Fe}^{\text{II}}]$ est caractérisé par une bande de Soret à 427 nm et une bande Q à 532 nm. Ces valeurs sont comparables à celles obtenues avec le complexe de fer(II) généré *in situ* dans l'expérience test réalisée en cellule UV de type Schlenk. Les deux bandes de Soret ont le même maximum d'absorption et les bandes Q sont décalées d'environ 3 nm.

La deuxième technique de caractérisation utilisée est la spectroscopie RMN. Le spectre RMN proton a été réalisé dans le chloroforme deutéré désoxygéné à température ambiante (Figure 76).

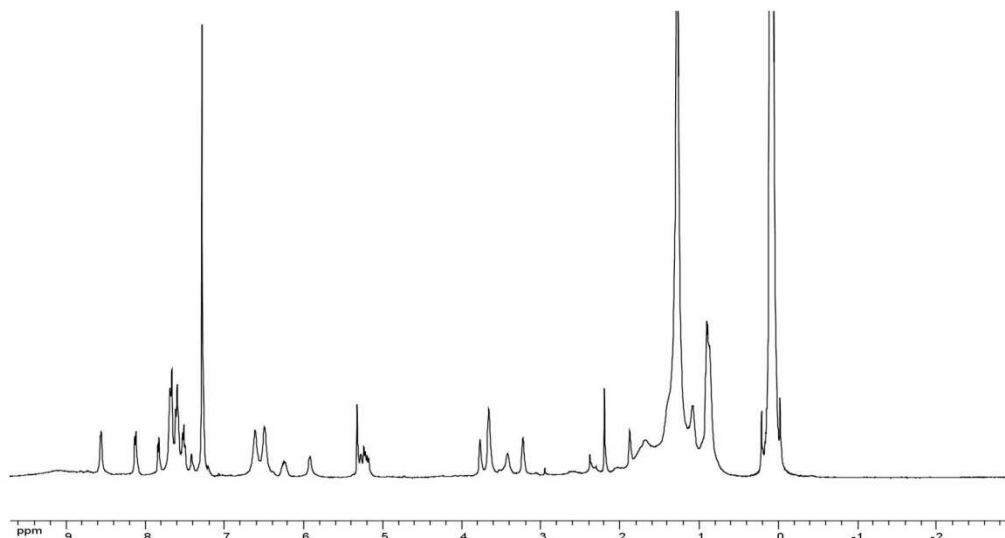


Figure 76 : spectre RMN de $[57\text{Fe}^{\text{II}}]$ dans le CDCl_3 obtenu par réduction de $[57\text{Fe}^{\text{III}}]\text{Br}$ *in situ* avec une solution de dithionite de sodium dans du D_2O

Ce spectre est bel et bien celui d'un composé parfaitement diamagnétique puisque les déplacements chimiques des protons s'étalent entre 0 et 10 ppm, ce qui est caractéristique d'un complexe fer(II) hexacoordiné de spin $S = 0$. Cependant la faible résolution du spectre empêche toute attribution précise des signaux. La RMN proton confirme ainsi l'hypothèse d'une géométrie hexacoordinée de notre complexe $[57\text{Fe}^{\text{II}}]$ où la sixième coordination serait assurée par le second bras pyridinique qui n'était pas initialement impliqué dans la complexation du métal notamment dans les complexes 57Zn et $[57\text{Fe}^{\text{III}}]\text{Cl}$.

III.2.3 Etude de la labilité du ligand axial

Pour étudier la labilité d'un des ligands pyridines intramoléculaire, une étude qualitative du comportement du complexe de fer(II) $[57\text{Fe}^{\text{II}}]$ a été effectuée sous une atmosphère de dioxygène ou de monoxyde de carbone par spectrophotométrie UV-Visible dans le toluène. Les courbes obtenues sont représentées ci-après.

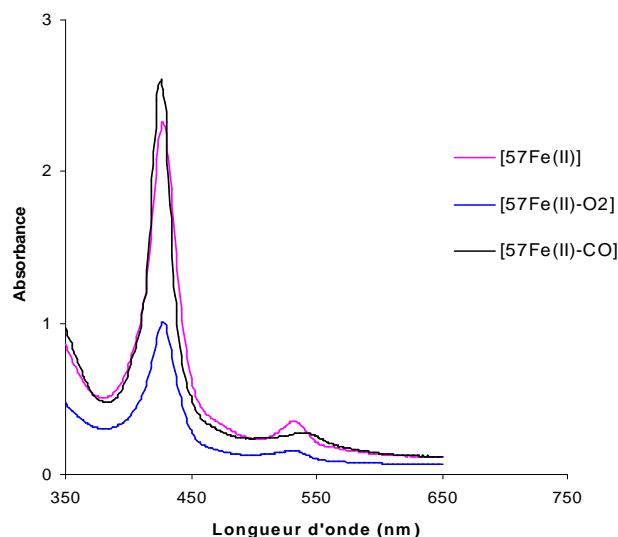


Figure 77 : spectres UV-Visible de $[57\text{Fe}^{\text{II}}]$ et $[57\text{Fe}^{\text{II}}]$ sous atmosphère de O_2 et de CO

En ajoutant du dioxygène dans la solution de la porphyrine de fer(II) $[57\text{Fe}^{\text{II}}]$, nous observons un changement de la morphologie du spectre UV-Visible du complexe $[57\text{Fe}^{\text{II}}]$ hexacoordiné. La bande de Soret (427 nm) et la bande Q (532 nm) diminuent d'intensité sans qu'on assiste à aucun déplacement de longueurs d'onde. Dans les mêmes conditions, l'ajout du monoxyde de carbone entraîne des changements plus importants sur le spectre UV-Visible du complexe $[57\text{Fe}^{\text{II}}]$. La bande de Soret subit un léger déplacement à 425 nm et la bande Q (539 nm) un déplacement bathochrome plus important de 7 nm. Ce comportement est caractéristique de la coordination du monoxyde de carbone dans la sphère de coordination du fer(II). La coordination du monoxyde de carbone ne peut être interprétée que par le déplacement d'un ligand pyridine par le monoxyde de carbone. Dès lors, les changements lents observés avec le spectre UV-Visible du complexe de fer(II) en présence de dioxygène dans l'expérience initiale en cellule UV de type Schlenk peuvent être interprétés par un échange entre le ligand pyridine et le dioxygène dans une cinétique lente. Cette différence de cinétique du comportement entre le monoxyde de carbone et le dioxygène avec notre complexe $[57\text{Fe}^{\text{II}}]$ peut être due à leur différence d'affinité considérable pour les porphyrines de fer(II) en général. En effet, en absence de site distal prédéfini de manière adéquate, les porphyrines de fer(II) isolées en solution fixent le monoxyde carbone 25000 fois plus fortement que le dioxygène.¹¹²

Parallèlement, une étude en spectroscopie RMN proton a été réalisée avec le complexe $[57\text{Fe}^{\text{II}}]$ dissous dans du chloroforme deutéré. L'échantillon est soumis à un barbotage de

monoxyde de carbone avant d'être enregistré dans le spectromètre. Un spectre relativement bien résolu a été obtenu, cependant il ne permet pas l'attribution complète de tous les protons (Figure 78).

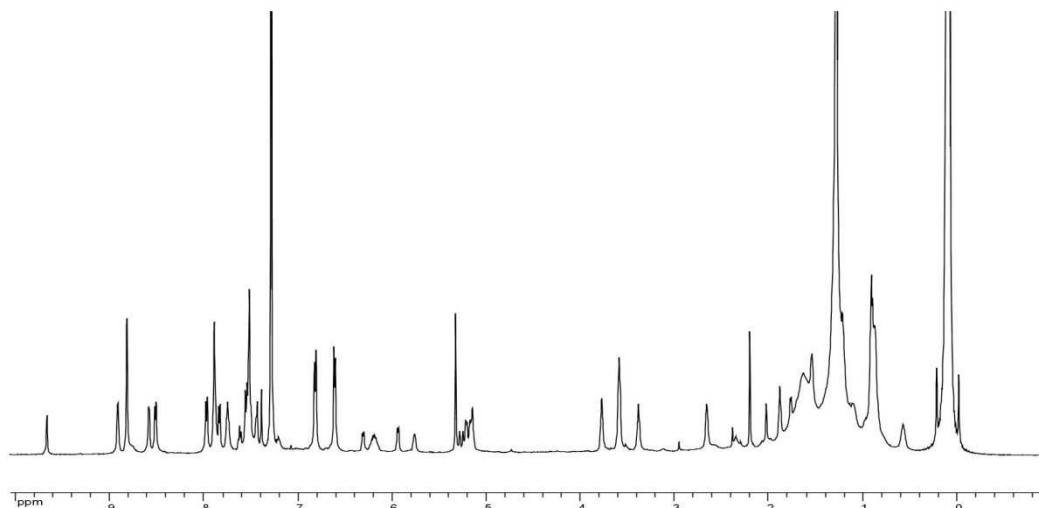


Figure 78 : spectre RMN de $[^{57}\text{Fe}^{\text{II}}]$ dans le CDCl_3 sous atmosphère de CO

Ce spectre bien que peu résolu traduit la formation d'un complexe de fer(II) parfaitement diamagnétique avec des déplacements chimiques qui s'étendent entre 0 et 10 ppm. Le spectre est différent du spectre du complexe $[^{57}\text{Fe}^{\text{II}}]$ hexacoordiné de départ (Figure 76), ce qui traduit la formation d'un nouveau complexe de fer(II) hexacoordiné avec un ligand monoxyde de carbone. Ainsi il y a eu un déplacement d'un ligand pyridine pour permettre la complexation du monoxyde de carbone. Cette étude RMN est une preuve supplémentaire de la labilité d'un des ligands pyridines observée en spectroscopie UV-Visible.

En résumé, cette étude effectuée sur le complexe $[^{57}\text{Fe}^{\text{II}}]$ préparé en boîte à gants valide les hypothèses que nous avons prononcées dans l'interprétation des résultats obtenus dans l'expérience réalisée en tube UV-Visible de type Schlenk, à savoir l'hexacoordination du complexe $[^{57}\text{Fe}^{\text{II}}]$ et la labilité d'un des ligands pyridines. L'utilisation de la réduction en boîte à gants par rapport à celle d'une réduction en cellule UV-Visible de type Schlenk ne produisant pas de différence notable dans les résultats obtenus, nous avons également opté pour la réalisation des expériences complémentaires en cellule UV-visible sous atmosphère inerte.

III.3 Génération du complexe de fer(II) en présence de N-méthylimidazole

Comme nous venons de le voir le complexe de fer(II) est hexacoordiné, ce qui empêche donc une fixation plus facile du dioxygène moléculaire. Pour empêcher la formation de la structure hexacoordinée impliquant les deux bras pyridiniques nous avons généré le complexe de fer(II) en présence d'un excès de N-méthylimidazole selon le protocole expérimental établi en cellule UV-Visible de type de Schlenk. Le choix du N-méthylimidazole s'explique par son association plus faible avec le complexe de fer(III) $[^{57}\text{Fe}^{\text{III}}]\text{Cl}$ comparé à celle avec l'imidazole et le 2-méthylimidazole. Les spectres UV-Visible obtenus durant cette étude sont représentés ci-dessous.

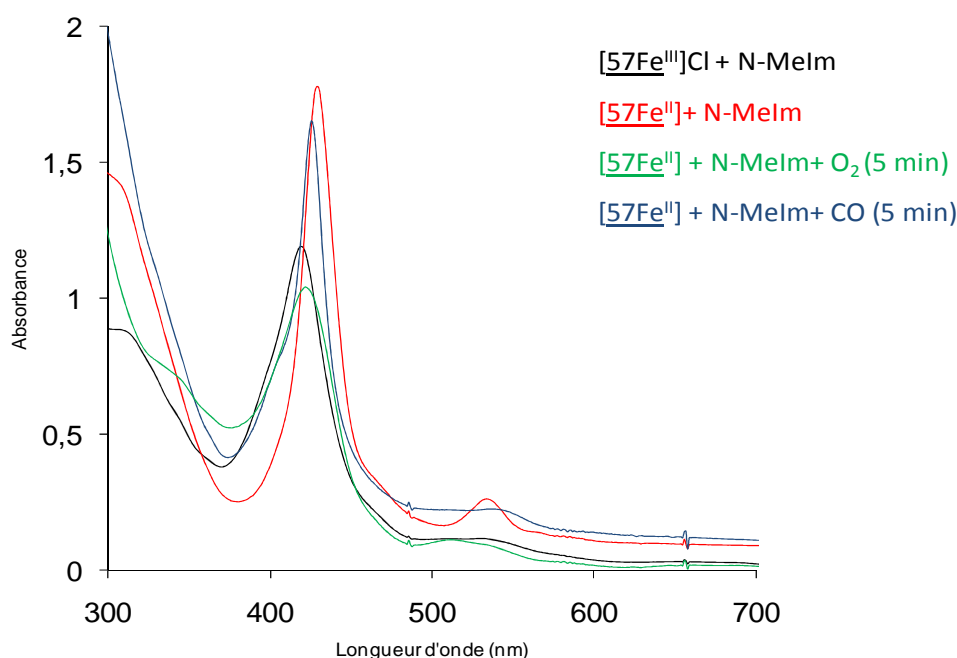


Figure 79 : étude de la fixation du dioxygène sur le complexe $[^{57}\text{Fe}^{\text{II}}]$ en présence de 2,5 équivalents de N-méthylimidazole

Comme attendu, la réduction du complexe $[^{57}\text{Fe}^{\text{III}}]\text{Cl}$ (courbe noire) par la solution de dithionite de sodium entraîne un déplacement de son spectre (bande de Soret à 419 nm et bande Q à 510 nm) vers un nouveau spectre avec une bande de Soret à 428 nm et une bande Q à 533 nm traduisant la formation d'un nouveau complexe hexacoordiné de fer(II) avec le ligand exogène N-méthylimidazole (courbe rouge). La preuve de la participation du N-méthylimidazole dans la complexation du fer(II) est donnée par les changements observés en ajoutant du dioxygène (courbe verte) avec une bande de Soret à 421 nm et une forte

diminution de la densité optique. En effet, l'oxygénation du complexe de fer(II) hexacoordiné impliquant les deux bras pyridines n'a occasionné que de faibles changements qui sont à l'opposé de ce qu'on vient de voir dans cette expérience. Cette comparaison nous permet d'affirmer sans ambiguïté que le N-méthylimidazole est impliqué dans la coordination du fer(II) en plus il est déplacé lors de l'oxygénation. Par ailleurs, pour apporter une preuve supplémentaire de la fixation de l'oxygène par le complexe de fer(II), nous avons fait barboter du monoxyde de carbone dans l'échantillon oxygéné. Le spectre obtenu (courbe bleue) présente une bande de Soret de forte densité optique à 425 nm. Ces changements sont une preuve du remplacement du dioxygène fixé par le complexe de fer(II) par le monoxyde de carbone.

Cette expérience met en évidence le fait qu'on peut générer le complexe fer(II)-oxygène à partir d'un complexe hexacoordiné comportant un ligand exogène labile. Cette nouvelle démarche est très différente de la voie classique où le complexe fer(II)-oxygène est obtenu à partir d'un complexe pentacoordiné de fer(II). Il faut remarquer que cette expérience utilise un subterfuge consistant à coordonner le N-méthylimidazole sur le fer dans son degré d'oxydation III. Le complexe de N-méthylimidazole n'existe donc que de manière transitoire. Dans l'état fer(II) il est remplacé par le dioxygène, ce qui explique que la coordination de l'oxygène soit observée de manière plus prononcée, mais pas complète.

III.4 Le complexe binucléaire fer-cuivre

Un autre moyen d'empêcher le bras pyridinique libre du complexe $[^{57}\text{Fe}^{\text{III}}]\text{Cl}$ de participer à la coordination en cas de réduction en fer(II), est de l'impliquer avec la phénanthroline de l'anse dans la complexation du cuivre(I). L'insertion du cuivre nous permet également de mimer plus fidèlement le site actif de la cytochrome c oxydase. Pour ce faire, nous avons dans un premier temps essayé d'isoler le composé $[^{57}\text{Fe}^{\text{III}}-\text{Cu}^{\text{I}}]\text{Cl}$, en faisant réagir le complexe $[^{57}\text{Fe}^{\text{III}}]\text{Cl}$ dans un mélange chloroforme/acétonitrile en présence d'un excès de bromure de cuivre selon un procédé décrit dans la littérature.²⁵ Mais les difficultés rencontrées pendant la purification avec des solvants usuels à cause de son insolubilité dans l'acétonitrile nécessaire pour la stabilisation de l'ion cuivreux, nous ont conduit à abandonner cette voie. Une nouvelle voie basée sur un dosage sous atmosphère inerte d'une solution de $[^{57}\text{Fe}^{\text{III}}]\text{Cl}$ dans le dichlorométhane par une solution désoxygénée de cuivre(I) ($\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4\text{PF}_6$) dissous dans le dichlorométhane a été ainsi explorée. Ce dosage est suivi

par spectrophotométrie UV-Visible (Figure 80) dans notre dispositif expérimental et dans les conditions opératoires décrites précédemment.

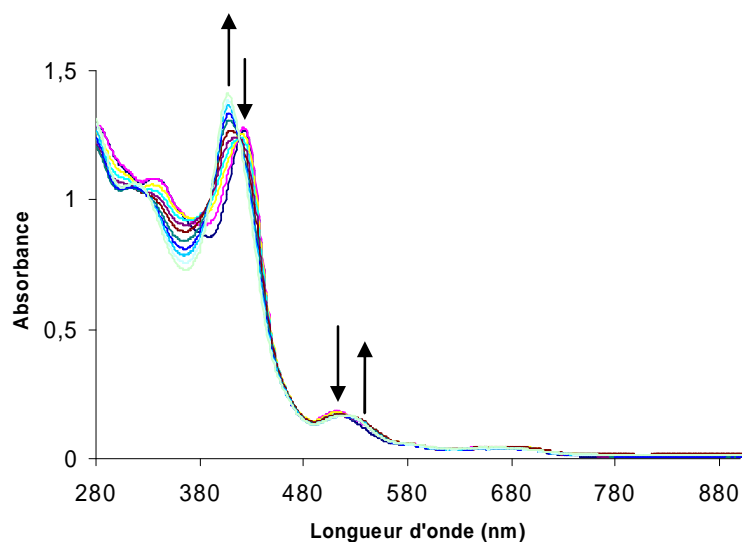


Figure 80 : spectre UV-Visible de la formation du complexe binucléaire $[^{57}\text{Fe}^{\text{III}}-\text{Cu}^{\text{I}}]\text{Cl}$

L'addition de la solution de cuivre(I) dans la solution du complexe $[^{57}\text{Fe}^{\text{III}}]\text{Cl}$ jusqu'à un équivalent entraîne la disparition des bandes d'absorption de l'espèce initiale (bande de Soret à 423 nm et bande Q à 511 nm) au profit de nouvelles bandes (bande de Soret à 407 nm et bande Q vers 519 nm). Cette transformation s'accompagne de l'apparition de deux points isosbestiques à 417 nm et à 515 nm qui confirment la formation d'un seul composé : le complexe binucléaire $[^{57}\text{Fe}^{\text{III}}-\text{Cu}^{\text{I}}](\text{CH}_3\text{CN})_2\text{PF}_6$ (noté $[^{57}\text{Fe}^{\text{III}}-\text{Cu}^{\text{I}}]\text{Cl}$ dans la suite du manuscrit).

Dans la continuité, le site ferrique du complexe binucléaire a été réduit en site ferreux par une solution de dithionite de sodium dans le but d'étudier la fixation du dioxygène dans ce site. Les spectres UV-Visible obtenus lors de cette étude sont représentés ci-dessous.

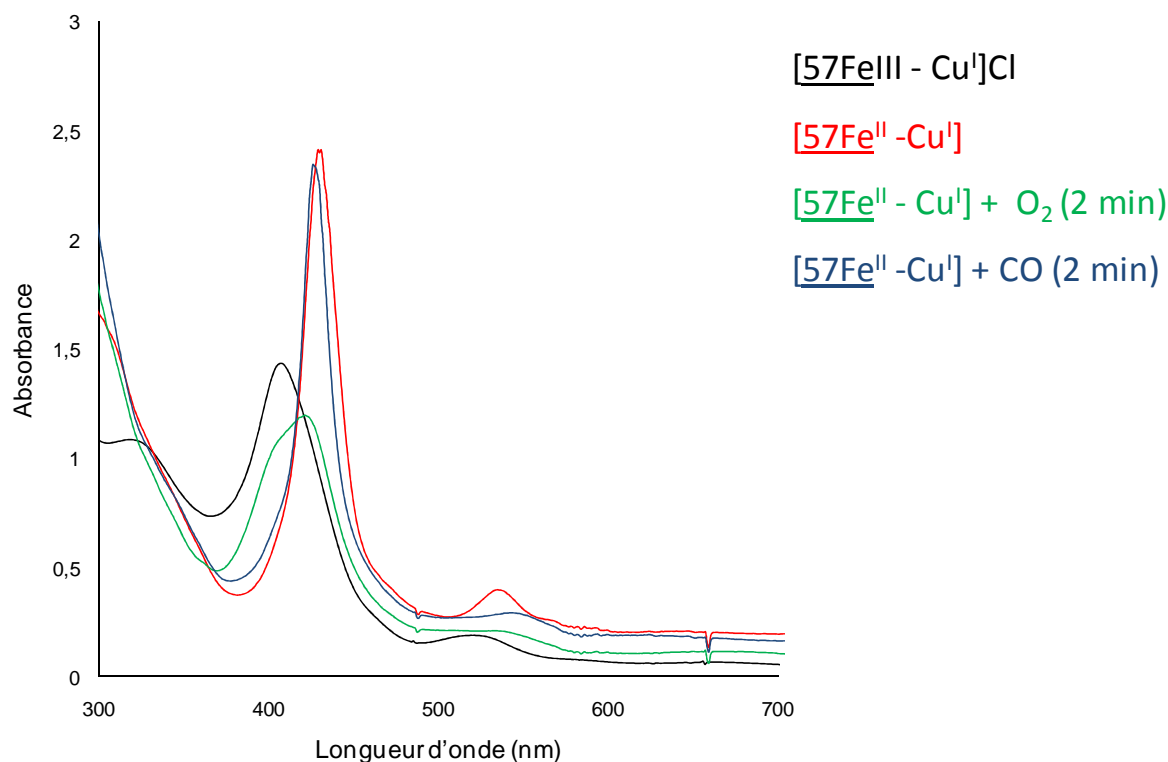


Figure 81 : étude la fixation du dioxygène sur le complexe binucléaire $[57\text{Fe}^{\text{III}}\text{-Cu}^{\text{I}}]\text{Cl}$

L'addition de la solution de dithionite de sodium provoque la réduction du site ferrique en site ferreux qui se manifeste par la disparition de la bande de Soret à 407 nm et de la bande Q à 519 nm du complexe binucléaire $[57\text{Fe}^{\text{III}}\text{-Cu}^{\text{I}}]\text{Cl}$ (courbe noire) au profit de deux nouvelles bandes beaucoup plus intenses, une bande de Soret à 428 nm et une bande Q à 533 nm qui caractérisent le complexe binucléaire $[57\text{Fe}^{\text{II}}\text{-Cu}^{\text{I}}]$ (courbe rouge). La fixation du dioxygène par ce dernier entraîne un déplacement hypsochrome d'environ 8 nm de la bande de Soret (420 nm) qui s'élargit et diminue en intensité (courbe verte). Ce comportement de la bande Soret a aussi été observé dans l'expérience précédente avec le complexe $[57\text{Fe}^{\text{II}}]$ en présence de N-méthylimidazole (Figure 79). Un autre comportement similaire de la bande de Soret entre les deux expériences est observé lors de la carbonylation. En effet, dans les deux expériences la carbonylation entraîne un déplacement bathochrome et une augmentation en intensité de la bande de Soret. Dans le cas du complexe binucléaire $[57\text{Fe}^{\text{II}}\text{-Cu}^{\text{I}}]$, elle passe de 420 nm à 426 nm (courbe bleue). La différence majeure que nous avons observée entre les deux expériences est la cinétique de la fixation de l'oxygène qui semble être accélérée par la présence du cuivre. Cependant ces observations devront être confirmées par des mesures de cinétiques.

IV Etudes électrochimiques

L'ensemble des mesures électrochimiques a été effectué en collaboration avec le Professeur Corinne Boudon du laboratoire d'Electrochimie et Chimie Physique du Corps Solide de l'Institut de Chimie de Strasbourg.

IV.1 A propos de l'électrochimie des porphyrines

Les porphyrines sont au cœur de nombreux processus biologiques mettant en jeu des transferts d'électrons (chaîne respiratoire, photosynthèse, détoxification de composés endogènes, ...). Afin de mieux comprendre les mécanismes de ces différents processus, de nombreuses études électrochimiques ont été effectuées sur des porphyrines synthétiques,¹¹⁵ modèles des systèmes biologiques. Ces études ont permis d'établir des relations entre la structure et l'activité redox de ces macrocycles.

IV.1.1 Les porphyrines bases libres

Les porphyrines bases libres en milieu non aqueux peuvent être oxydées en deux étapes monoélectroniques et réversibles. On obtient successivement un monoradical cation puis un dication. En réduction, les deux premières étapes sont monoélectroniques et réversibles et conduisent au radical monoanion, puis au dianion. Deux autres étapes de réduction se produisent à des potentiels très négatifs (- 2V et - 3V par rapport au couple ferrocène/ferricinium). Ces échanges sont monoélectroniques et réversibles en milieu anhydre et aprotique, et multiélectroniques et irréversibles dans les autres conditions.

Des études systématiques, associant électrochimie et spectroscopie UV-Visible, ont permis de localiser les transferts électroniques:

- en réduction : l'électron est transféré au système π du macrocycle
- en oxydation : l'étape initiale du transfert électronique implique les doublets non liants des atomes d'azote pyrroliques.

IV.1.2 Les métalloporphyrines

Deux types principaux de comportement redox peuvent être distingués pour les métalloporphyrines, selon la nature du métal complexé par le macrocycle.

¹¹⁵ Bottomley, L. A. ; Kadish, K. M. *Inorg. Chem.* 1981, 20, 1348.

Le premier type correspond aux métalloporphyrines dont le métal est non électroactif (Zn(II), Mg(II), ...). L'oxydation et la réduction impliquent alors uniquement le macrocycle tétrapyrrolique (comportement analogue aux bases libres).

Le second type correspond aux métalloporphyrines comportant un métal électroactif (Fe(III), Co(II), Mn(II), ...). Les réductions ou les oxydations peuvent alors intervenir aussi bien sur le métal que sur le ligand. Avec le fer et le cobalt, plusieurs changements du degré d'oxydation du métal sont souvent observés. Ces étapes monoélectroniques et réversibles précèdent en général celles du ligand, dans l'ordre des énergies croissantes à appliquer pour réaliser les transferts successifs.

Les valeurs des potentiels redox mesurés dépendent de divers facteurs, liés soit à la porphyrine elle-même, soit à son environnement, notamment :

- la nature des substituants en position β ou *méso*: avec des substituants électrodonneurs, l'oxydation du macrocycle est facilitée et sa réduction plus difficile. Des effets inverses sont observés avec les substituants électro-attracteurs (CN, Cl, Br, ...).
- la présence de coordinants axiaux sur le métal : Le nombre, et le caractère électro-donneur ou électro-accepteur de ces ligands axiaux entrent en jeu. Moins le ligand axial est basique, plus la métalloporphyrine est facile à réduire et difficile à oxyder.
- la nature du solvant : s'il est non coordinant, elle a seulement pour conséquence le déplacement des potentiels redox mesurés et reste en général sans influence sur le mécanisme du transfert électronique à l'électrode (à l'exception de présence d'eau résiduelle).

IV.2 Comportement électrochimique de [57Fe^{III}]Cl en milieu organique

Le complexe [57Fe^{III}]Cl a été caractérisé par électrochimie. Cette caractérisation est très importante parce qu'elle peut servir à déterminer l'activité de notre complexe. En effet l'activité des enzymes de type oxydase est une activité rédox donc il est indispensable de connaître les propriétés électrochimiques de notre complexe.

L'étude du complexe [57Fe^{III}]Cl par voltampérométrie cyclique a été réalisée dans le dichlorométhane à température ambiante dans une cellule d'électrochimie classique à trois électrodes. Une électrode de travail constituée par un disque tournant en carbone vitreux de

diamètre 3 mm, un fil de platine comme électrode auxiliaire (ou contre électrode) et enfin une électrode de référence en platine. La solution analysée comprend le complexe $[57\text{Fe}^{\text{III}}]\text{Cl}$ à une concentration de $2 \cdot 10^{-4}$ M ainsi que l'hexafluorophosphate de tétrabutylammonium 0,1 M comme électrolyte support. Les potentiels sont donnés par rapport au couple rédox ferrocène/ferricinium (Fc^+/Fc) utilisé comme référence interne. La vitesse de balayage notée v est fixée à $0,1 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$

Seul le domaine de potentiel correspondant à l'électroactivité du fer dans le complexe $[57\text{Fe}^{\text{III}}]\text{Cl}$ a été exploré, les réductions et les oxydations impliquant le macrocycle porphyrinique n'ont pas été étudiées. En effet, l'activité de nos modèles est conditionnée uniquement par la réactivité du métal de cœur. Le voltampérogramme obtenu avec le complexe $[57\text{Fe}^{\text{III}}]\text{Cl}$ est représenté ci-dessous (courbe noire).

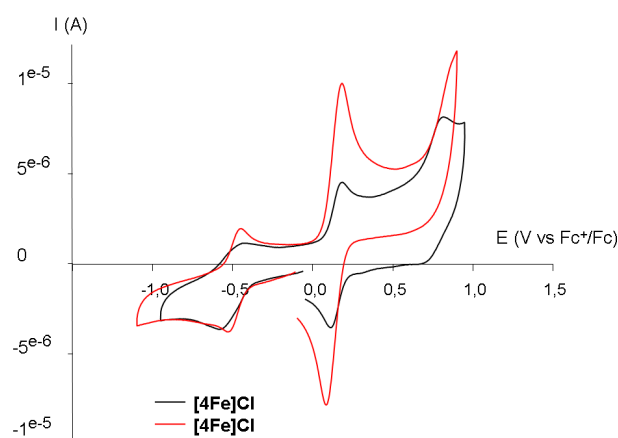


Figure 82 : voltampérogramme du complexe $[57\text{Fe}^{\text{III}}]\text{Cl}$ dans le dichlorométhane (courbe noire), en présence d'imidazole (courbe rouge) ; référence interne Fc^+/Fc

Le complexe $[57\text{Fe}]\text{Cl}$ étudié par voltampérométrie cyclique présente une réduction monoélectronique quasi-réversible à $-0,63 \text{ V}/\text{Fc}^+/\text{Fc}$ ($\Delta E_p = 120 \text{ mV}$, $I_{pa}/I_{pc} = 0,65$) caractéristique de la réduction du fer(III) en fer(II) dans le complexe $[57\text{Fe}^{\text{III}}]\text{Cl}$.

L'ajout d'un ligand exogène de type imidazole provoque un léger déplacement des pics anodiques et cathodiques. La réduction monoélectronique du couple $\text{Fe}(\text{III})/\text{Fe}(\text{II})$ observée ici à $-0,62 \text{ V}/\text{Fc}^+/\text{Fc}$ ($\Delta E_p = 60 \text{ mV}$, $I_{pa}/I_{pc} = 1$) est à présent parfaitement réversible. En guise d'illustration, la courbe rouge de la Figure 82 représente le voltampérogramme du complexe $[57\text{Fe}^{\text{III}}]\text{Cl}$ en présence d'un excès d'imidazole.

Le manque de réversibilité du voltampérogramme du complexe $[57\text{Fe}^{\text{III}}]\text{Cl}$ seul peut s'expliquer par une interaction partielle entre l'ion chlorure et le complexe de fer(II) généré par la réduction. Des effets analogues ont été observés par Kadish *et al.*¹¹⁵ avec la

$[\text{Fe}^{\text{III}}\text{TPP}]\text{Cl}$ et expliqués par une compétition entre la DMF et l'ion chlorure dans la sphère de coordination de la porphyrine de fer(II). Une autre interprétation possible du manque de réversibilité du pic anodique pourrait être due à l'existence d'une interaction entre l'eau résiduelle (provenant du solvant) et la sphère de coordination du fer(II) après la réduction.

Ainsi, la réversibilité observée en présence d'un excès d'imidazole est due à la coordination de l'imidazole dans le complexe de fer(III) dans son état initial, et après réduction, dans le complexe de fer(II). Cette tendance confirme de manière empirique les observations RPE qui dénotaient un état pentacoordiné du fer(III) dans nos modèles.

IV.3 Etude électrocatalytique

Comme nous l'avons déjà souligné dans le chapitre I, l'électrocatalyse sur l'électrode rotative « disque-anneau » s'est révélée être une technique de choix pour étudier le caractère fonctionnel des modèles. Ainsi, l'électrocatalyse de la réduction du dioxygène par les complexes $[\underline{57}\text{Fe}^{\text{III}}]\text{Cl}$, $[\underline{60}\text{Fe}^{\text{III}}]\text{Cl}$ et leurs analogues contenant du cuivre $[\underline{57}\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{I}}]\text{Cl}$, $[\underline{60}\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{I}}]\text{Cl}$ (Figure 83 ci-dessous) a été réalisée en milieu aqueux.

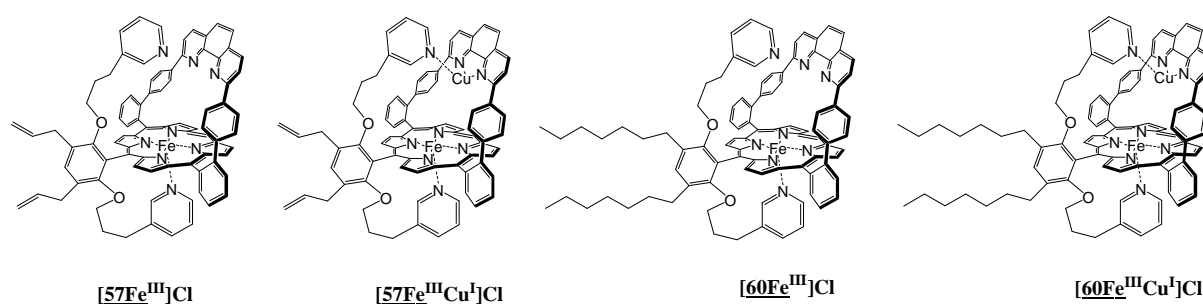


Figure 83 : complexes étudiés en électrocatalyse

Les complexes sont adsorbés en déposant environ 10 μl de solution de complexe ($C = 1,5 \text{ mM}$) à la surface du disque en graphite pyrolytique et ont été étudiés en milieu aqueux tamponné à $\text{pH} = 7$, par un tampon phosphate, voisin du pH physiologique. La solution aqueuse est saturée en oxygène par barbotage poussé. Le disque en graphite pyrolytique est entouré d'un anneau en platine destiné à détecter la formation éventuelle d'espèces partiellement réduites de l'oxygène moléculaire. L'ensemble constitue une électrode disque-anneau. Tous les potentiels sont donnés ici par rapport au potentiel de l'électrode de référence utilisée (AgCl/Ag saturée en KCl).

Les études en voltampérométrie hydrodynamique ont été effectuées en faisant tourner l'électrode à une vitesse $N = 100$ tours par minute. Le balayage du potentiel est réalisé sur le disque. Le potentiel de l'anneau est fixé à $0,8$ V par rapport à la référence AgCl/Ag, potentiel pour lequel les espèces partiellement réduites de l'oxygène éventuellement libérées lors de la réaction sur le disque sont réoxydées. C'est le courant de réoxydation de ces espèces que l'on mesure éventuellement à l'anneau.

Sur la Figure 84 (graphique du bas) nous avons représenté les voltampérogrammes stationnaires obtenus sur le disque modifié par l'adsorption de $[^{57}\text{Fe}^{\text{III}}]\text{Cl}$ et $[^{57}\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{I}}]\text{Cl}$, dans l'eau saturée en dioxygène sous $p\text{O}_2 = 1$ bar. Il s'agit à chaque fois du premier voltampérogramme enregistré après l'adsorption du composé. Dès le deuxième voltampérogramme, le courant limite obtenu est inférieur d'au moins 30 % à celui obtenu pour le 1^{er} voltampérogramme. De telles observations sont fréquentes avec les porphyrines de fer²⁸ et pourraient s'expliquer soit par une dégradation du catalyseur par des espèces très réactives libérées au cours de la réduction du dioxygène, soit par désorption partielle. Sur le graphique du haut est représenté le courant mesuré à l'anneau, en fonction du potentiel balayé au disque.

La réduction biélectronique du dioxygène observée en l'absence d'espèce adsorbée sur le disque sert de référence pour la mesure des courants (courbes noire). Le nombre d'électrons échangés a été estimé par comparaison entre le plateau de diffusion obtenu au disque pour l'oxygène seul (correspondant à une réduction biélectronique) et le plateau obtenu après adsorption de porphyrine. L'inconvénient de cette méthode est de négliger dans l'expression du courant limite au plateau, l'influence de la quantité de catalyseur adsorbée, qui agit sur la cinétique des réactions chimiques qui se produisent à l'électrode en plus des échanges électroniques. A condition d'effectuer des mesures à faible vitesse de rotation ($N = 100$ tours par minute), l'approximation réalisée est raisonnable, comme Anson a pu le vérifier lors d'expériences avec la **FeTPP** adsorbée sur électrode.¹¹⁶ Une autre méthode de détermination plus précise (équation Koutecky-Levich)¹¹⁷ consiste à mesurer le courant limite I_L (obtenu sur le plateau) pour différentes vitesses de rotation N . La représentation $(I_L)^{-1} = f(N^{-1/2})$ conduit à une droite dont la pente est inversement proportionnelle au nombre d'électrons échangés, comme on peut l'attendre pour un processus limité par la diffusion. Mais l'impossibilité d'obtenir plusieurs scans reproductibles successifs ne nous a pas permis de mettre en œuvre cette méthode.

¹¹⁶ Shighara, K. ; Anson, F. C. *J. Phys. Chem.* **1982**, 86, 2776.

¹¹⁷ Shi, C. ; Anson, F. C. *Inorg ; Chem.* **1990**, 29, 4298.

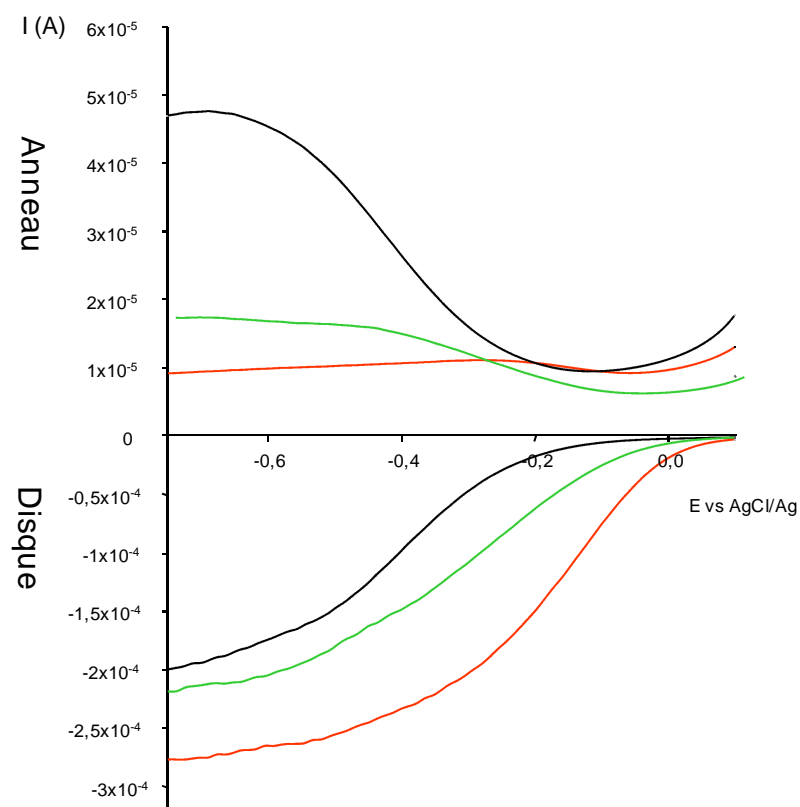


Figure 84 : courants de disque et d'anneau d'une électrode disque-anneau tournante, modifiée sur le disque par l'adsorption de $[57\text{Fe}^{\text{III}}]\text{Cl}$ (courbe verte), $[57\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{I}}]\text{Cl}$ (courbe rouge) en fonction du potentiel imposé au disque, milieu : H_2O , $\text{pH} = 7$, saturé en O_2 sous $p_{\text{O}_2} = 1 \text{ bar}$, $N = 100 \text{ tours.min}^{-1}$

La réduction non catalysée du dioxygène, à deux électrons, qui nous sert de référence s'effectue vers $-0,4 \text{ V}$ par rapport à AgCl/Ag (courbe noire). La comparaison de sa vague de réduction par rapport à celle obtenue avec le complexe $[57\text{Fe}^{\text{III}}]\text{Cl}$ adsorbé sur le disque (courbe verte) révèle que le nombre d'électron échangé sur le plateau est égal à 2,5 électrons en présence de notre complexe de fer. Cette réduction s'effectue vers $-0,3 \text{ V}$. Ainsi, l'utilisation de notre catalyseur a facilité la réduction du dioxygène avec un abaissement en surtension d'environ $0,10 \text{ V}$. Bien que le nombre d'électrons échangés reste faible, la courbe obtenue en même temps à l'anneau montre que la quantité de peroxydes libérés est faible.

Avec le complexe analogue contenant du cuivre $[57\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{I}}]\text{Cl}$, la réduction est plus efficace. Le nombre d'électron échangé est alors d'environ 3 et cette réduction s'effectue vers $-0,2 \text{ V}$ avec un abaissement en surtension plus important. La production de peroxydes est quant à elle presque inexistante dans ce cas (courbe rouge).

L'électrocatalyse des complexes $[60\text{Fe}^{\text{III}}]\text{Cl}$ et $[60\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{I}}]\text{Cl}$ a également été explorée. Les voltampérogrammes stationnaires obtenus avec ces complexes sont représentés ci-dessous

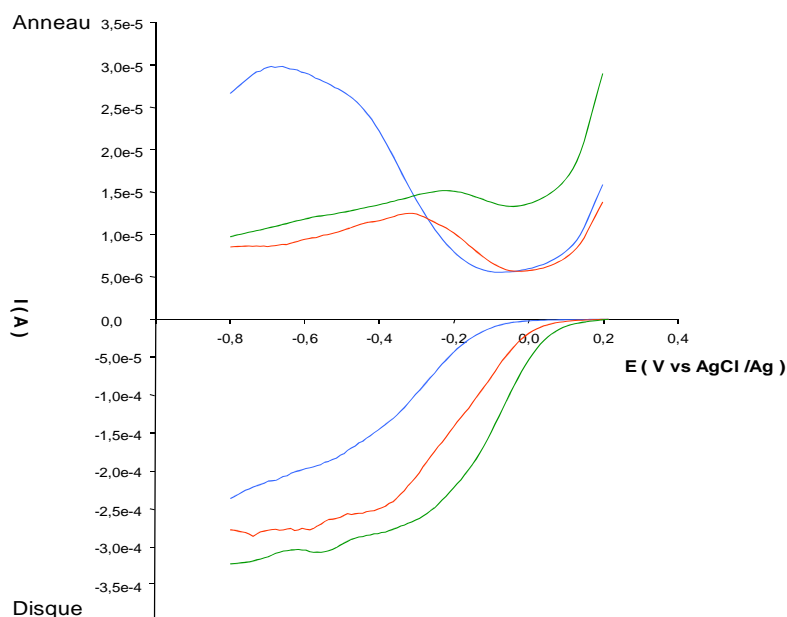


Figure 85 : courant de disque et d'anneau d'une électrode disque-anneau tournante, modifiée sur le disque par l'adsorption de $[60\text{Fe}^{\text{III}}]\text{Cl}$ (courbe rouge), $[60\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{I}}]\text{Cl}$ (courbe verte) en fonction du potentiel imposé au disque, milieu : H_2O , $\text{pH} = 7$, saturé en O_2 sous $p\text{O}_2 = 1$ bar, $N = 100$ tours. min^{-1}

Ces voltampérogrammes présentent une évolution semblable à celle que nous avons observée avec les complexes $[57\text{Fe}^{\text{III}}]\text{Cl}$ et $[57\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{I}}]$. Le nombre d'électron échangé lors de l'électrocatalyse est égal à 2,5 pour le complexe $[60\text{Fe}^{\text{III}}]\text{Cl}$ et 2,7 pour le complexe $[60\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{I}}]\text{Cl}$ et s'effectue respectivement vers - 0,25 V et - 0,20 V par rapport à AgCl/Cl . La surtension pour réaliser ces deux réductions est abaissée d'environ 150 mV en présence de $[60\text{Fe}^{\text{III}}]\text{Cl}$ et de 200 mV en présence $[60\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{I}}]\text{Cl}$. Les courbes à l'anneau montrent une libération de peroxydes très faibles avec le complexe sans cuivre et une production négligeable avec le complexe contenant du cuivre.

Cette étude électrocatalytique met en évidence le rôle important du cuivre dans nos modèles. Les modèles sans cuivre se sont révélés moins efficaces que leurs analogues contenant du cuivre. Ce comportement est semblable à celui du modèle naturel même si nos modèles biomimétiques ne permettent pas la réduction tétraélectronique du dioxygène.

Le tableau ci-dessous récapitule le nombre d'électrons échangés et les potentiels de demi-vague obtenus lors de l'électrocatalyse du dioxygène avec nos quatre modèles. A cela nous avons ajouté deux autres modèles développés au laboratoire dont la coordination axiale est assurée par une base de type imidazole (Figure 86).⁶⁵

Complexe	Nombre d'électrons Echangés (sur le plateau)	$E_{1/2} - E_{AgCl/Ag}$ (V)
[57Fe^{III}]Cl	2,5	- 0,27
[57Fe^{III}Cu^I]Cl	3,0	- 0,19
[60Fe^{III}]Cl	2,5	- 0,25
[60Fe^{III}Cu^I]Cl	2,7	- 0,19
61Fe	4	- 0,04
62Fe-Cu + N-méthylimidazole	3,5	- 0,06

Tableau 4 : récapitulatif du nombre d'électrons échangés et potentiel de demi-vague de modèles développés au laboratoire

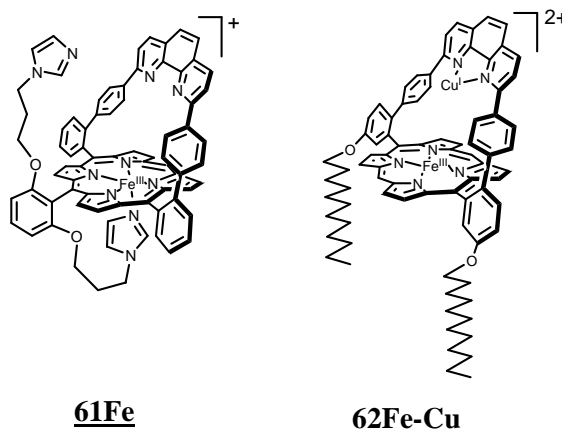


Figure 86 : deux modèles de cytochrome *c* oxydase développés au laboratoire

Au vu du Tableau 4 on remarque que les deux modèles précédemment développés au laboratoire **61Fe** et **62Fe-Cu** catalysent plus efficacement l'électroréduction du dioxygène.

Pour obtenir une catalyse plus efficace il serait intéressant, d'une part de remplacer la base axiale pyridinique embarquée dans nos modèles (Figure 83) par une base de type imidazole comme dans le modèle **61Fe**. En effet, les modèles portant des bases axiales de type imidazole ont un caractère biomimétique plus marqué et sont connus pour réduire le dioxygène à des potentiels plus positifs comparés aux modèles portant des bases axiales de types pyridines. D'autre part, les performances accrues en électrocatalyse des systèmes fer-cuivre sont à mettre en regard d'une meilleure fixation de l'oxygène moléculaire. Il est donc nécessaire d'approfondir l'étude de ce phénomène, constaté lors de l'oxygénation du complexe en UV-Visible (Figure 81). Des informations pourront être obtenues notamment grâce aux

spectroscopies vibrationnelles sur ce qui tend de plus en plus à être considéré comme une étape déterminante du fonctionnement de l'enzyme.¹¹⁸

V Conclusion

Ce chapitre décrit la réactivité et les propriétés électrocatalytiques de nos modèles vis-à-vis de l'oxygène moléculaire. Nous avons vu au cours de cette étude que la réduction du complexe de fer(III) haut spin pentacoordiné conduisait à un complexe de fer(II) hexacoordiné bas spin. La labilité d'un des ligands pyridiniques a été mise en évidence lors de l'expérience de carbonylation. Pour permettre la fixation du dioxygène nous avons développé deux techniques pour générer le complexe de fer(II). La première repose sur la formation d'un complexe hexacoordiné de fer(III) de départ en utilisant un ligand exogène le N-méthylimidazole et la seconde repose sur l'implication du bras pyridinique libre dans la complexation du cuivre au niveau de la phénanthroline de l'anse. Dans ces deux cas, la réduction du complexe de fer(III) a permis de former un complexe de fer(II) capable de fixer le dioxygène, ce dioxygène est alors déplacé en présence de monoxyde de carbone.

Les études électrocatalytiques du dioxygène en milieu aqueux ont montré que la sélectivité la plus importante était obtenue avec les modèles fer-cuivre comme catalyseurs.

¹¹⁸ Collman, J. P. ; Ghosh, S. ; Dey, A. ; Decréau, R. A. ; Yang, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 5034.

Conclusion générale et perspectives

Conclusion générale et perspectives

S'inspirant de l'utilisation, par la Nature, d'un motif porphyrinique unique (protoporphyrine IX) dans une variété importante d'architectures et de fonctions, les travaux réalisés dans ce manuscrit ont porté sur le développement et l'optimisation de la synthèse de dérivés génériques d'hémoprotéines. Ces dérivés incorporent le motif porphyrine à anse phénanthroline en raison de l'existence d'un site distal prédéfini par l'anse et d'une bonne accessibilité synthétique.

Les travaux de synthèse ont conduit à l'obtention d'une porphyrine à anse phénanthroline multifonctionnelle **43**. Elle comporte l'anse phénanthroline prévue pour la complexation partielle du cuivre (II/I), les points d'ancrage phénolique pour une base embarquée proximale ainsi qu'un ligand auxiliaire du cuivre et deux fonctions allyles. Ces dernières ont conféré à la structure une solubilité sensiblement améliorée par rapport à la première génération de modèles développés au laboratoire. De plus, elles ont permis l'introduction de chaînes grasses latérales par métathèse croisée dans la structure d'un second modèle générique d'hémoprotéines **52** avec une meilleure solubilité.

Le greffage de bases pyridiniques identiques sur les deux points d'encrage phénolique des structures génériques **43** et **51** a conduit à la préparation de deux ligands **57** et **60**, modèles de cytochrome c oxydase. Les complexes de zinc découlant de ces ligands ont été caractérisés, notamment par RMN bidimensionnelle, de manière à démontrer sans ambiguïté que la coordination proximale de centres métalliques situés dans le cœur de la porphyrine se fait exclusivement par la pyridine située sur la face ouverte. La structure cristallographique d'un des complexes de zinc a pu être obtenue et confirme les observations en solution.

La RPE appliquée aux complexes de fer(III) haut spin, pentacoordinés, a également permis de confirmer la coordination du ligand pendant proximal dans ces composés. Suivant un processus similaire à celui observé pour des dérivés simples de porphyrines de zinc(II) à anse phénanthroline déjà étudiés au laboratoire, les complexes de fer(III) sont capables de reconnaître sélectivement les imidazoles non substitués sur l'azote pyridinique. La sélectivité observée pour la ligation du zinc par différents imidazoles est toutefois très différente de celle du Fe(III). Par conséquent, les études spectroscopiques en UV-Visible et RPE de la complexation du fer(III) ont permis d'observer l'ordre de stabilité suivant : ImH > 2-MeImH > N-MeIm.

Les complexes de fer(II) obtenus par réduction des complexes de fer(III) par la dithionite de sodium ont donné des résultats inattendus. Contrairement à la géométrie

pentacoordinée observée sur les complexes de zinc et de fer(III), les complexes de fer(II) présentent une géométrie hexacoordinée autour du métal central. Cette hexacoordination empêche toute fixation de l'oxygène moléculaire. Cependant, la labilité d'une des bases pyridiniques a été observée en RMN par carbonylation. Pour contourner la géométrie hexacoordinée autour du fer(II) deux stratégies permettant de générer les complexes de fer(II) pentacoordinés *in situ* ont été mises en œuvre.

La première stratégie consiste à utiliser la propriété des complexes de fer(III) de fixer les bases de types imidazoles dans le site distal pour former des espèces hexacoordinées. Pour éviter la fixation de la pyridine distale dans le complexe de fer(II), la réduction du complexe de fer(III) est effectuée après complexation préalable de N-méthylimidazole. Elle conduit au complexe hexacoordiné de fer(II) correspondant et la labilité relative du sixième ligand exogène permet d'observer l'oxygénation du complexe par déplacement du N-méthylimidazole.

La seconde stratégie utilise l'implication du bras pyridinique distal dans la complexation du cuivre(I) dans le site phénanthroline de l'anse. Dans ce cas aussi, la réduction du complexe de fer(III)-cuivre(I) conduit au complexe de fer(II) qui fixe quasi-instantanément l'oxygène moléculaire. Dans tous les cas de fixation de l'oxygène, la réaction des deux complexes de fer(II) avec le monoxyde de carbone a montré le déplacement de l'oxygène moléculaire par ce dernier confirmant, y compris dans les cas du système fer-cuivre, l'absence de formation d'un complexe μ -peroxo.

Enfin, nous avons étudié l'électrocatalyse de la réduction à quatre électrons de l'oxygène moléculaire par nos modèles de cytochrome *c* oxydase. Cette étude a montré que les modèles fer-cuivre, plus proches des systèmes biologiques, adsorbés sur électrode en graphite, catalysaient plus efficacement l'électroréduction du dioxygène en eau en milieu aqueux tamponné à pH = 7 que les modèles fer seuls. Les performances en électrocatalyse des systèmes fer-cuivre sont à mettre en regard d'une meilleure fixation de l'oxygène moléculaire.

Plusieurs études doivent venir compléter ce travail de recherches et de nombreuses orientations restent à explorer. En premier lieu, le rôle du cuivre peut être mieux cerné par l'incorporation de nos modèles portant des chaînes alkyles dans des membranes artificielles. Comme dans les travaux de Collman, le but serait de reproduire l'environnement globulaire de cytochrome *c* oxydase et de limiter la cinétique de l'apport électronique. Cette approche permettra également des études par dépôt en surface d'électrodes en parallèle à des mesures spectroscopiques. La spectroscopie vibrationnelle couplée à l'électrochimie permet de préciser le mécanisme de la réduction du dioxygène par l'observation d'intermédiaire. Ces études sont

développées en collaboration avec le laboratoire du Pr Petra Hellwig de l'Institut de Chimie de Strasbourg grâce à l'aide de l'ANR. Des essais préliminaires et la mise au point des conditions expérimentales sont en cours avec notre modèle **57Fe**.

Sur le plan synthétique, plusieurs portes sont ouvertes sur le développement de nouveaux modèles d'hémoprotéines par nos modèles génériques multifonctionnelles. D'ailleurs, comme nous l'avons déjà souligné au cours de la synthèse du ligand de type bis-pyridine **57**, un composé **58** résultant d'une alkylation partielle du substituant résorcinol peut être obtenu. Comme démontré par quelques essais préliminaires, ce composé peut être alkylé et peralkylé de manière à fournir deux modèles potentiels de la myoglobine (**62** et **63**) représentés ci-après.

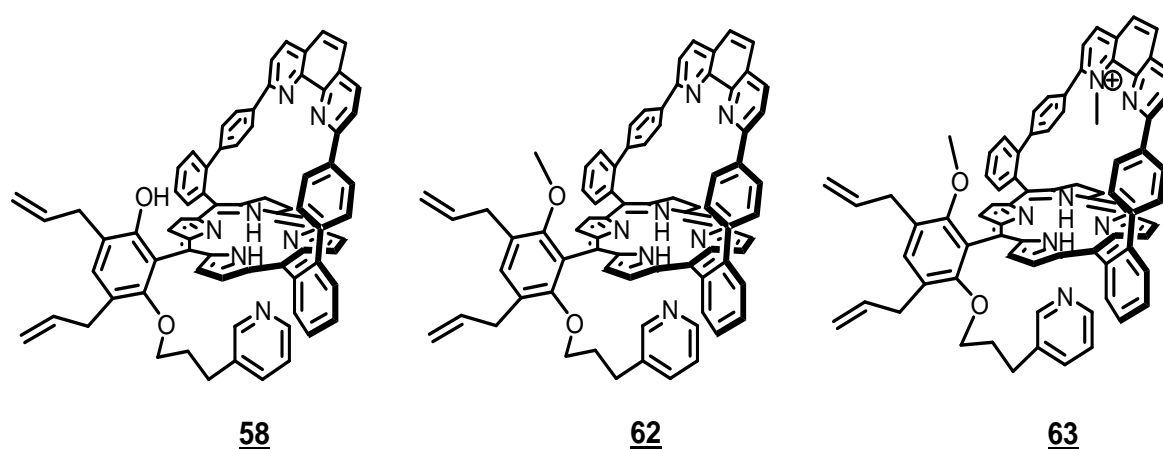


Figure 87 : modèles potentiels de la myoglobine

Le composé **58** est aussi un bon candidat pour l'introduction de ligands pendants en position proximale contenant une fonction mimant la tyrosine du site actif de la cytochrome c oxydase. Ainsi, le greffage du ligand **64** représenté ci-dessous dont la synthèse a été décrite¹¹⁹ sur le composé **58** sera intéressant à explorer.

¹¹⁹ Pesavento, R. P. ; Pratt, D. A. ; Jeffers J. ; van der Donk, W. A. *Dalton Trans.* **2006**, 3326.

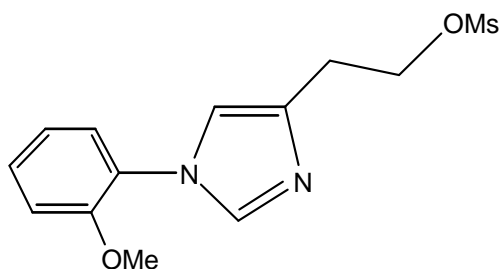


Figure 88 : ligand pendant pour la position proximale

Un autre moyen introduire un mime de la tyrosine consiste à faire une substitution sur la position *méso* libre de nos modèles de cytochrome *c* oxydase.¹²⁰

Finalement, l'utilisation des fonctions allyles comme masque des fonctions hydroxyles des résorcinols peut être appliquée à des structures bis-résorcinol. La construction d'une seconde anse dans des édifices portant deux résorcinols en *méso* est donc naturellement en cours de développement au laboratoire.

¹²⁰ Charalambidis, G. ; Ladomenou, K ; Boitrel, B. ; Coutsolelos, A. G. *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, 1263.

PARTIE EXPERIMENTALE

PARTIE EXPERIMENTALE

I General methods and materials

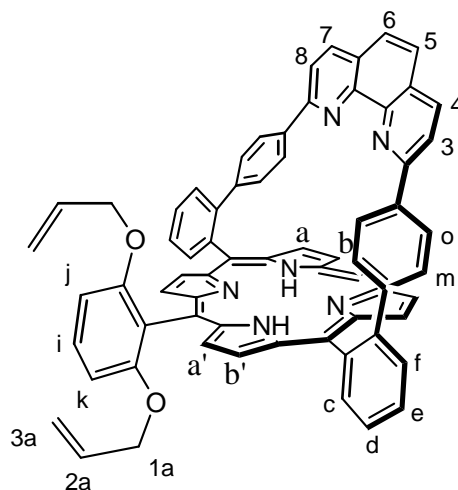
Commercially available reagents and solvent (ACS grade) were used as purchased without further purification. THF was distilled over Na/benzophenone under argon until the color changed to blue. Dichloromethane was distilled over P₂O₅ under argon. Column chromatography was performed with alumina or silica gel from Merck (aluminium oxide 90 standardized, activity II-III according to Brockmann; silica gel 60, 0.063-0.200 mm). UV-visible spectra were recorded on an Agilent 8453E spectrometer. NMR spectra (¹H-NMR and ¹³C-NMR) were recorded on Bruker Avance 400 and Avance 300 spectrometer. The abbreviations used to describe NMR signals are: s: singlet, d: doublet, t: triplet, m: multiplet, q: quadruplet. Spectra were referenced with residual solvent protons. Mass spectra: Electro-Spray TOF: microTOF LC Bruker Daltonics were performed at the Service spectrometrie de masse (Institut de Chimie de Strasbourg, UMR 7177 CNRS/ULP). EPR spectra were recorded by M. Bernard and S. Choua (Institut de Chimie, Strasbourg, UMR 7177 CNRS/ULP) on a Bruker ESP 300 spectrometer worked in X band (9.4 GHz).

NB: Only new compounds are described hereafter.

II Experimental procedure section

II.1 Porphyrin 42

Boron tribromide (7 mL of a 1 M solution in dichloromethane, 7 mmol) was added dropwise, under argon to a solution of porphyrin 40 (223 mg, 0.24 mmol) in 40 mL of dry dichloromethane. The mixture was refluxed overnight under argon, and then 10 mL of methanol were added to quench the excess of boron tribromide. The solvents were evaporated under vacuum, and more methanol (10 mL) was



added and evaporated twice to remove the excess of boron in the form of trimethylborate. The green solid was taken in 50 mL of dichloromethane. The solution was washed twice with 40 mL of 2 M Na₂CO₃ (aq), once with water, and dried over Na₂SO₄. Evaporation of the solvent afforded 180 mg of crude dihydroxy porphyrin derivative **41** as a highly insoluble red solid. This compound was used without further purification for the next step.

Allylbromide (0.5 mL, 5.8 mmol) was added to a degassed solution of the crude dihydroxy porphyrin **41** (180 mg 0.194 mmol) obtained in the previous step, K₂CO₃ (276 mg, 2 mmol) and 18-crown-6 (catalytic amount: 2.6 mg, *ca* 1 μmol) in 40 mL of acetone. After stirring overnight at 60 °C, the solvent was removed and the solid residue was taken in dichloromethane (50 mL). The organic phase was washed twice with water and dried over Na₂SO₄. The solvent was evaporated and the crude product was purified by chromatography (alumina, dichloromethane/cyclohexane, 1:1) to afford 136 mg of the porphyrin **42** (0.19 mmol, 79%).

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 9.86 (s, 1H, H meso), 8.98 (d, 2H, J = 4.8 Hz, H_a), 8.94 (d, 2H, J = 4.8 Hz, H_{a'}), 8.90 (d, 2H, J = 4.8 Hz, H_b), 8.73 (dd, 2H, J = 7.3 Hz and 1.3 Hz, H_c), 8.64 (d, 2H, J = 4.8 Hz, H_b), 7.95 (d, 2H, J = 8.4 Hz, H_{4,7}), 7.91-7.81 (m, 6H, H_{d,e,f}), 7.66 (t, 1H, J = 8.4 Hz, H_i), 7.53 (d, 2H, J = 8.4, H_{3,8}), 7.48 (s, 2H, H_{5,6}), 6.99 (dd, 2H, J = 23 Hz and 8.4 Hz, H_{j,k}), 6.77 (d, 4H, J = 8.4, H_o), 6.51 (d, 4H, J = 8.4, H_m), 5.37-5.25 (m, 2H, H_{2a}), 4.63 (qqq, 2H, J = 1.6 Hz, H_{3a cis}), 4.46-4.43 (m, 3H, H_{1a}), 4.27 (dt, 2H, J = 5 Hz and 1.7 Hz, H_{3a trans}), 4.13 (dq, 1H, J = 17.4 Hz and 1.7 Hz, H_{1a}), -2.59 (s, 2H, -NH₂).

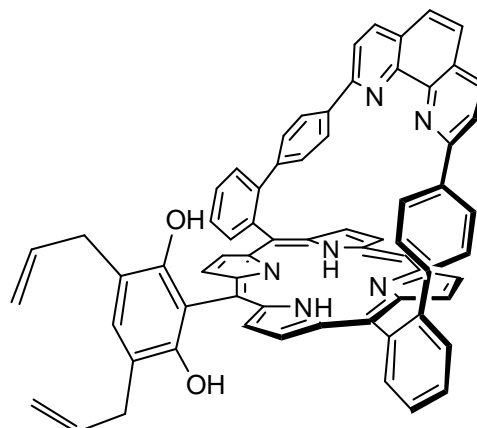
UV-Visible in CH₂Cl₂: λ nm (ε in M⁻¹ cm⁻¹): 285 (72737), 421 (252381), 514 (13481), 547 (3576), 588 (4896), 644 (1261).

ESI MS: exact mass calculated for C₆₈H₄₇N₆O₂ [M+H]⁺: m/z = 979.38; found: 979.35.

E.A. calculated for C₆₈H₄₆N₆O₂ + C₆H₁₂ + 1/3 CH₂Cl₂ + 1/3 H₂O: C 81.34, H 5.45, N 7.66; found: C 81.51, H 5.34, N 7.93.

II.2 Porphyrin 43

Porphyrin 42 (100 mg, 0.1 mmol) in 35 mL of melted, degassed diphenyl ether was heated at 200 °C for 20 h under argon. After cooling to *ca.* 50 °C, the mixture was directly filtered by column chromatography (silica gel, cyclohexane) and eluted with a mixture of cyclohexane/ethyl acetate, 5:1, until the diphenyl ether was removed, followed by a 1:1 gradient to yield 55 mg of 43 (0.06 mmol, 55%).



^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): δ = 10.25 (s, 1H, H meso), 9.38 (d, 2H, J = 4.8 Hz, H_a), 9.11 (d, 2H, J = 4.8 Hz, H_b), 8.68 (dd, 2H, J = 1.2 Hz, and 1.6 Hz, H_c), 8.65 (q, 4H, J = 4.8 Hz, H_{a',b'}), 7.96 (d, 2H, J = 8.8 Hz, H_{4,7}), 7.93-7.84 (m, 6H, H_{d,e,f}), 7.52 (d, 2H, J = 8.8, H_{3,8}), 7.48 (s, 2H, H_{5,6}), 7.16 (s, 1H, H_i), 6.73 (d, 4H, J=8.4, H_o), 6.52 (d, 4H, J = 8.4, H_m), 6.24 (s, 1H, -OH), 6.07 (tdt, 2H, J = 17.3 Hz, 10 Hz, and 6.6 Hz, H_{2a}), 5.13-5.00 (m, 4H, H_{3a}), 3.92 (s, 1H, -OH), 3.40 (ddd, J = 18.2 Hz, 6.6 Hz, and 1.7 Hz, 4H, H_{1a}), -2.66 (s, 2H, -NH₂).

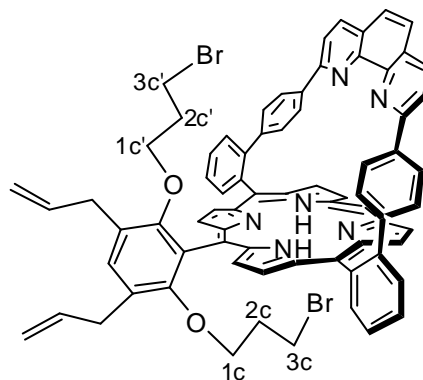
UV-Visible in CH_2Cl_2 : λ nm (ϵ in $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$): 282 (59113), 420 (180775), 513 (13021), 547 (4614), 585 (5574), 642 (657).

ESI MS: exact mass calculated for $\text{C}_{68}\text{H}_{47}\text{N}_6\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: $m/z = 979.38$; found: 979.37.

E.A. calculated for $\text{C}_{68}\text{H}_{46}\text{N}_6\text{O}_2 + 2\text{CH}_3\text{COOCH}_2\text{CH}_3 + 2/3 \text{C}_6\text{H}_{12} + 1/3 \text{H}_2\text{O}$: C 78.92, H 5.85, N 6.90; found: C 78.99, H 5.81, N 7.17.

II.3 Porphyrin 53

A degassed mixture of the porphyrin 43 (50 mg, 0.05 mmol), 1,3-dibromopropane (1 mL, 9.85 mmol), K_2CO_3 (100 mg, 0.72 mmol), and 18-crown-6 in 20 mL of acetone was refluxed for 20 h under argon. The solvent was evaporated under vacuum, and the product was filtered over alumina/ CH_2Cl_2 . Precipitation with CH_2Cl_2 /hexane afforded 35 mg of the porphyrin 53 (0.03



mmol, 79% yield).

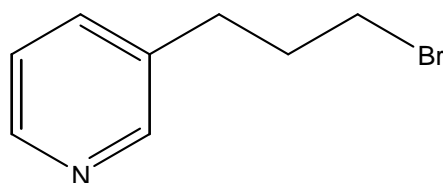
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz): δ = 9.95 (s, 1H, H meso), 9.03 (d, 2H, J = 4.8 Hz, H_a), 8.92 (dd, 4H, J = 8.1 Hz and 4.8 Hz, $\text{H}_{a' b'}$), 8.72 (m, 4H, $\text{H}_{b,c}$), 7.97 (d, 2H, J = 8.4 Hz, $\text{H}_{4,7}$), 7.93-7.82 (m, 6H, $\text{H}_{d,e,f}$), 7.55 (d, J = 8.4 Hz, 2H, $\text{H}_{3,8}$), 7.49 (s, 2H, $\text{H}_{5,6}$), 7.44 (s, 1H, H_i), 6.78 (d, 4H, J = 8.4 Hz, H_o), 6.45 (d, 4H, J = 8.4 Hz, H_m), 6.27-6.14 (m, 2H, H_{2a}), 5.28-5.17 (m, 4H, H_{3a}), 3.62 (m, 4H, H_{1a}), 3.34 (t, 2H, J = 5.4 Hz, H_{1c}), 2.90 (t, 2H, J = 5.7 Hz, $\text{H}_{1c'}$), 2.01 (t, 2H, J = 6.6 Hz, H_{3c}), 1.78 (t, 2H, J = 5.5 Hz, $\text{H}_{3c'}$), 0.74-0.63 (m, 2H, H_{2c}), 0.41-0.33 (m, 2H, $\text{H}_{2c'}$), -2.64 (s, 2H, $-\text{NH}_2$).

UV-Visible in CH_2Cl_2 : λ nm (ϵ in $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$): 286 (60487), 422 (203429), 514 (14895), 548 (3401), 589 (4839), 645 (11112).

HR-MS (ESI-MS): exact mass calculated for $\text{C}_{74}\text{H}_{56}\text{Br}_2\text{N}_6\text{O}_2\text{K}$ $[\text{M}+\text{K}]^+$: m/z = 1257.2463, found: 1257.0391.

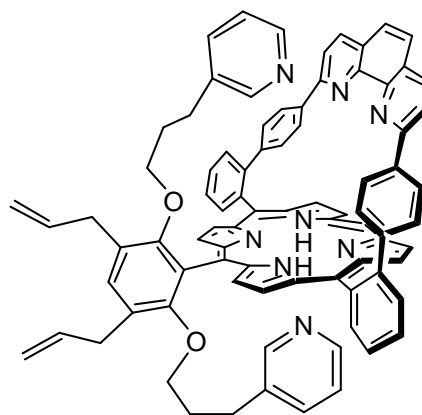
II.4 3-(3-pyridyl)-1-bromopropane (56)

This compound was prepared according to a literature procedure.^{98b}



II.5 Porphyrin 57

Freshly prepared 3-(3-pyridyl)-1-bromopropane (37 mg, 0.18 mmol) was added to a degassed mixture of the diol **43** (73 mg, 0.075 mmol) and K_2CO_3 (104 mg, 0.75 mmol) in 20 mL of dry THF. The reaction mixture was then refluxed overnight. After removing solvent under vacuum, the solid residue was dissolved in dichloromethane, washed twice with water and the organic phase was dried over Na_2SO_4 . The solvent was



removed under reduced pressure and the resulting dark solid was purified by column chromatography (ethyl acetate/cyclohexane, 1:1, and then pure ethyl acetate) to yield **57** as a red solid (58 mg, 0.047 mmol, 58%).

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): δ = 10.00 (s, 1H, H meso), 9.10 (d, 2H, J = 4.7 Hz, H_a), 8.95 (s, 4H, $\text{H}_{a',b'}$), 8.73 (d, 2H, J = 4.7 Hz, H_b), 8.67 (dd, 2H, J = 7.3 and 1.6 Hz, H_c), 7.95-7.81 (m, 8H, $\text{H}_{d,e,f,4,7}$), 7.57 (dd, 1H, J = 4.6 and 1.3 Hz, $\text{H}_{6\text{pyr}}$), 7.47 (s, 2H, $\text{H}_{5,6}$), 7.45-7.42 (m, 4H, $\text{H}_{i,3,8,6'\text{pyr}}$), 7.34 (dd, 2H, J = 6.3 Hz and 2.2 Hz, $\text{H}_{2\text{pyr},2'\text{pyr}}$), 6.60 (d, 2H, J = 8.4 Hz, H_o), 6.48 (d, 2H, J = 8.4 Hz, H_m), 6.25-6.07 (m, 3H, $\text{H}_{2a,2a',4'\text{pyr}}$), 5.61-5.58 (m, 1H, $\text{H}_{5'\text{pyr}}$), 5.30-5.10 (m, 5H, $\text{H}_{3a,3a',5\text{pyr}}$), 4.79-4.77 (m, 1H, $\text{H}_{4\text{pyr}}$), 3.63 (d, 2H, J = 6.4 Hz, H_{1a}), 3.52 (d, 2H, J = 6.4 Hz, $\text{H}_{1a'}$), 3.02 (t, 2H, J = 6.4 Hz, H_{1c}), 2.91 (t, 2H, J = 6.4 Hz, $\text{H}_{1c'}$), 1.01-0.97 (m, 2H, $\text{H}_{3c'}$), 0.88-0.83 (m, 2H, H_{3c}), 0.59-0.52 (m, 2H, H_{2c}), 0.23-0.16 (m, 2H, $\text{H}_{2c'}$), -2.62 (s, 2H, $-\text{NH}_2$).

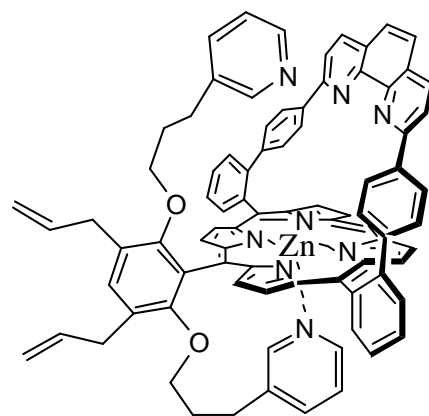
UV-Visible in CH_2Cl_2 : λ nm (ϵ in $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$): 283 (68225), 421 (240793), 515 (12670), 546 (2610), 588 (3966), 644 (874).

HR-MS (ESI-MS): exact mass calculated for $\text{C}_{84}\text{H}_{64}\text{N}_8\text{O}_2\text{H}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: m/z = 1217.5225; found: 1217.5045.

E.A. calculated for $\text{C}_{84}\text{H}_{64}\text{N}_8\text{O}_2 + \text{CH}_3\text{COOCH}_2\text{CH}_3 + 1/2 \text{H}_2\text{O}$: C 80.40, H 5.60, N 8.52; found: C 80.40, H 5.80, N 8.11.

II.6 Porphyrin **57Zn**

To a solution of **57** (45 mg, 0.04 mmol) in 20 mL of THF was added $\text{Zn}(\text{OAc})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (88 mg, 0.4 mmol) in one portion. After refluxing for 4 h, the solvent was removed under vacuum and the pink-red solid residue was taken in dichloromethane. The solution was washed twice with water, dried over Na_2SO_4 and the solvent was removed under reduced pressure. The crude product was purified by chromatography (silica gel, ethyl acetate/cyclohexane, 1:1) to give 47 mg of the metallated porphyrin **42Zn** (0.04 mmol, 99%).



^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): δ = 10.01 (s, 1H, H meso), 9.16 (d, 2H, J = 4.4 Hz, H_a), 8.82 (q, 4H, J = 4.8 Hz, $\text{H}_{a',b'}$), 8.74 (d, 2H, J = 4.4 Hz, H_b), 8.63 (dd, 2H, J = 7.4 and 1.4 Hz, H_c),

7.90-7.84 (m, 6H, H_{4,7,e,f}), 7.77-7.73 (m, 2H, H_d), 7.46(s, 2H, H_{5,6}), 7.44-7.40 (m, 4H, H_{3,8,6'pyr,i}), 6.59 (d, 2H, J = 8.4 Hz, H_o), 6.44 (d, 2H, J = 8.4 Hz, H_m), 6.27-6.05 (m, 4H, H_{2a,4pyr,4'pyr}), 5.57 (broad s, 1H, H_{5'pyr}), 5.40-5.37 (m, 1H, H_{5pyr}), 5.28-5.18 (m, 4H, H_{3a,3a'}), 5.10 (broad s, 1H, H_{2'pyr}), 3.59 (d, 2H, J = 6.5 Hz, H_{1a}), 3.47 (d, 2H, J = 6.5 Hz, H_{1a'}), 3.03 (t, 2H, J = 6 Hz, H_{1c'}), 2.72-2.68 (m, 3H, H_{1c,6pyr}), 2.48 (s, 1H, H_{2pyr}), 1.64-1.61 (m, 2H, H_{3c}), 1.28-1.23 (m, 2H, H_{2c}), 0.80-0.75 (m, 2H, H_{3c'}), -0.06 (broad s, 2H, H_{2c'}).

UV-Visible in CH₂Cl₂: λ nm (ϵ in M⁻¹ cm⁻¹): 287 (79691), 410 (31198), 431 (355792), 523 (2587), 561(16475), 599 (2884).

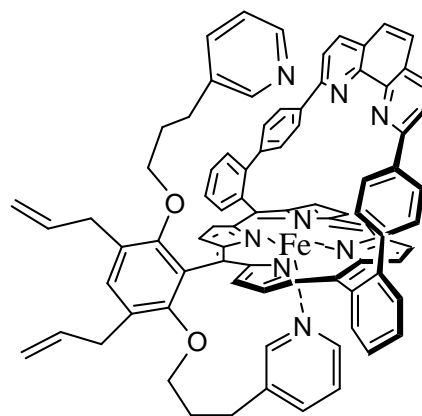
HR-MS (ESI-MS): exact mass calculated for C₈₄H₆₂N₈O₂ZnLi [M+Li]⁺: m/z = 1285.4443; found: 1285.2953.

E.A. calculated for C₈₄H₆₂N₈O₂Zn + C₆H₁₂ + H₂O: C 78.16, H 5.54, N 8.10; found: C 78.09, H 5.54, N 8.20.

II.7 Porphyrin [**57**Fe^{III}]Cl

(This compound was prepared according to a modified literature procedure.)¹¹³

To a solution of **57** (100 mg, 0.08 mmol) in 20 mL of dry, degassed THF, 2,6-lutidine was added and the dark solution was refluxed for 15 min under argon. Anhydrous FeCl₂ (133 mg, 0.8 mmol) was added, and the mixture was refluxed overnight. The mixture was cooled to room temperature and then exposed to air for 30 min to achieve complete oxidation into the Fe^{III} complex. Column chromatography of the entire mixture (alumina, THF then



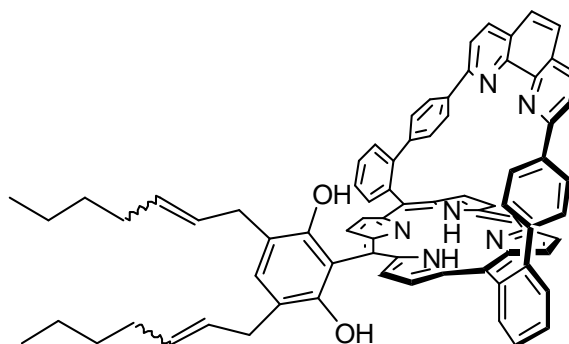
THF/ methanol, 3:2) provided a red-brown solution which was evaporated under reduced pressure. After drying under high vacuum, the crude product was dissolved in 20 mL of chloroform and HCl gas was bubbled into the stirred solution for 5 min. The solvent was evaporated and the iron complex was dried under high vacuum to afford [**57**Fe]Cl in quantitative yield.

UV-Visible in CH₂Cl₂: λ nm (ϵ in M⁻¹ cm⁻¹): 285 (25155), 421 (152946), 512 (26898), 653 shoulder (1192).

HR-MS (ESI-MS): exact mass calculated for C₈₄H₆₂FeN₈O₂ [M]⁺: m / z = 1270.4343; found: 1270.3292.

II.8 Porphyrin 51

Porphyrin 43 (40 mg, 0.04 mmol) and 2nd generation Grubb's catalyst (8.7 mg, 0.01 mmol) were combined in 10 mL of degassed dichloromethane under argon atmosphere. 1-Hexene (0.2 mL, excess) was added and the mixture was refluxed overnight. The solvent was removed

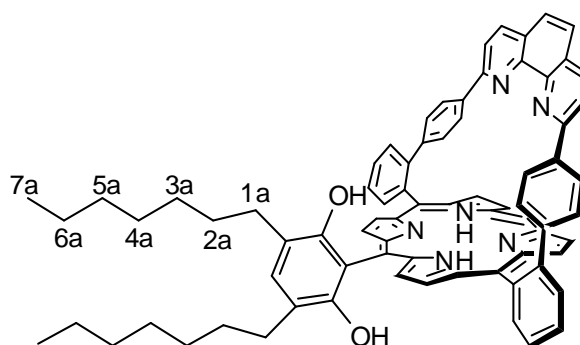


under vacuum and the crude material was purified by column chromatography (silica gel, ethyl acetate/cyclohexane, 1:3) to yield a mixture of stereoisomers of porphyrin 51 as a purple solid (37 mg, 0.033 mmol, 83 %).

HR-MS (ESI-MS): exact mass calculated for C₇₆H₆₂N₆O₂H [M+H]⁺: m / z = 1091.4939; found: 1091.5007.

II.9 Porphyrin 52

Palladium on charcoal (10%) (50 mg) was suspended in methanol (10 mL) and hydrogen was bubbled through the mixture for 10 min to activate the catalyst. Subsequently, the porphyrin 51 (83 mg, 0.08 mmol) in ethyl acetate (10 mL) was added and hydrogen was bubbled through the mixture for 10 min. The



mixture was stirred overnight at room temperature under hydrogen atmosphere (atmospheric pressure). The dark mixture was filtered through a pad of celite, and the green solution was

neutralized with triethylamine. After removing the solvent, the crude material was purified by column chromatography (silica gel, ethyl acetate/cyclohexane, 1:3) to yield the porphyrin diol **52** as a purple solid (58 mg, 0.056 mmol, 70 %) that was used without further purification in the alkylation reaction.

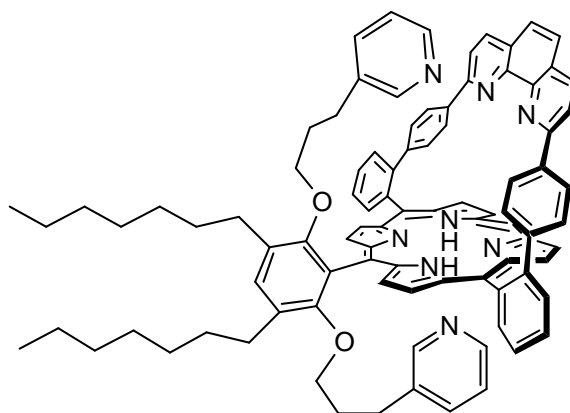
^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz): δ = 10.24 (s, 1H, H meso), 9.37 (d, 2H, J = 4.5 Hz, H_a), 9.09 (d, 4H, J = 4.5 Hz, H_b), 8.71-8.63 (m, 6H, $\text{H}_{a',b',c}$), 7.98-7.82 (m, 8H, $\text{H}_{4,4',d,e,f}$), 7.55-7.49 (m, 4H, $\text{H}_{3,3',5,5'}$), 7.17 (s, 1H, H_i), 6.73 (d, 4H, J = 8.4, H_o), 6.55 (d, 4H, J = 8.4, H_m), 5.63 (s, 1H, -OH), 3.70 (s, 1H, -OH), 2.77-2.55 (m, 4H, H_{1a}), 1.38-1.13 (m, 20H, $\text{H}_{2a,3a,4a,5a,6a}$) 0.88-0.81 (m, 6H, H_{7a}), -2.60 (s, 2H, $-\text{NH}_2$).

UV-Visible in CH_2Cl_2 : λ nm (ϵ in $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$): 284 (55020), 422 (173739), 514 (11178), 547(3296), 590 (3434), 655 (6781).

HR-MS (ESI-MS): exact mass calculated for $\text{C}_{76}\text{H}_{66}\text{N}_6\text{O}_2\text{Li}$ $[\text{M}+\text{Li}]^+$: m/z = 1101.5403; found: 1101.5292.

II.10 Porphyrin **60**

The alkylation procedure was similar to that used to produce **57**, using the following: porphyrin diol **52** (20 mg, 0.02 mmol), K_2CO_3 (25 mg, 0.2 mmol), 3-(3-pyridyl)-1-bromopropane (9mg, 0.05 mmol) and 10 mL of THF. Column chromatography (silica gel, dichloromethane/methanol, 99:1) gave **60** as a red-blue solid (15.9 mg, 65%).



^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz): δ = 10.00 (s, 1H, H meso), 9.10 (d, 2H, J = 4.5 Hz, H_a), 8.94 (dd, 4H, J = 7.13 and 4.8 Hz, $\text{H}_{a',b'}$), 8.72 (d, 2H, J = 4.5 Hz, H_b), 8.73-8.65 (m, 2H, H_c), 7.95-7.80 (m, 8H, $\text{H}_{d,e,f,4,7}$), 7.53-7.41 (m, 4H, $\text{H}_{1,3,5,6,8,6',2\text{pyr}}$), 7.34-7.32 (m, 2H, $\text{H}_{2',\text{pyr},6\text{pyr}}$), 6.59 (d, 2H, J = 8.4 Hz, H_o), 6.48 (d, 2H, J = 8.4 Hz, H_m), 6.18-6.16 (m, 1H, $\text{H}_{4',\text{pyr}}$), 5.60-5.56 (m, 1H, $\text{H}_{5',\text{pyr}}$), 5.18 (broad s, 1H, $\text{H}_{4\text{pyr}}$), 4.69 (broad s, 1H, $\text{H}_{5\text{pyr}}$), 3.03 (t, 2H, J = 6 Hz, H_{1c}), 2.89 (t, 2H, J = 6 Hz, $\text{H}_{1c'}$), 2.80 (t, 2H, J = 7.6 Hz, H_{1a}), 2.70 (t, 2H, J = 7.6 Hz, H_{1a}), 1.87-1.74

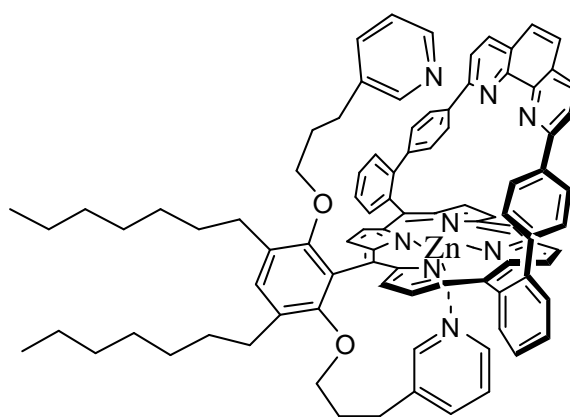
(m, 4H, H_{2a}), 1.40-1.27 (m, 16H, H_{3a,4a,5a,6a}), 1.00-0.82 (m, 10H, H_{3c,3c',7a}), 0.59-0.53 (m, 2H, H_{2c}), 0.22-0.13 (m, 2H, H_{2c'}), -2.62 (s, 2H, -NH₂).

UV-Visible in CH₂Cl₂: λ nm (ϵ in M⁻¹ cm⁻¹): 284 (35565), 422 (113096), 515 (7501), 550 (2270), 589 (2606), 645 (966).

HR-MS (ESI-MS): exact mass calculated for C₉₂H₈₄N₈O₂Li [M+Li]⁺: m / z = 1339.687; found: 1339.633.

II.11 Porphyrin **60Zn**

The metallation was performed under conditions similar to those used to synthesize porphyrin **57Zn**, using the same solvent and metal salt: porphyrin **10** (15.9 mg, 0.01 mmol), Zn(OAc)₂·2H₂O (26 mg, 0.1 mmol), and 10 mL of THF. Column chromatography (alumina, dichloromethane/cyclohexane, 4:1) afforded **60Zn** as a purple solid (10 mg, 0.006 mmol, 60%).

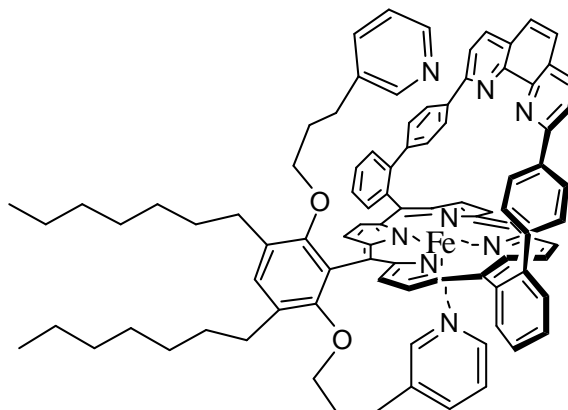


¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 10.07 (s, 1H, H meso), 9.23 (d, 2H, J = 4.4 Hz, H_a), 8.83 (d, 2H, J = 4.4 Hz, H_b), 8.77 (s, 4H, H_{a',b'}), 8.69-8.63 (m, 2H, H_c), 7.92-7.85 (m, 8H, H_{e,f,4,7}), 7.78-7.74 (m, 2H, H_d), 7.48-7.43 (m, 5H, H_{3,5,6,8,6'pyr}), 7.34 (s, 1H, H_i), 6.60 (d, 2H, J = 8.4 Hz, H_o), 6.44 (d, 2H, J = 8.4 Hz, H_m), 6.16-6.10 (m, 2H, H_{4'pyr,4pyr}), 5.67 (broad s, 1H, H_{5'pyr}), 5.50 (broad s, 1H, H_{2'pyr}), 5.41-5.37 (m, 1H, H_{5pyr}), 3.03 (t, 2H, J = 5.6 Hz, H_{1c'}), 2.74-2.24 (m, 8H, H_{1c,1a,6pyr,2pyr}), 1.84-1.81 (m, 3H, H_{3c}), 1.72-1.61 (m, 4H, H_{2a}), 1.35-1.31 (m, 2H, H_{2c}), 1.30-1.22 (m, 16H, H_{3a,4a,5a,6a}), 0.92-0.81 (m, 6H, H_{7a}), 0.53 (broad s, 2H, H_{3c'}), -0.33 (broad s, 2H, H_{2c'}).

HR-MS (ESI-MS): exact mass calculated for C₉₂H₈₂N₈O₂ZnH [M+H]⁺: m/z = 1395.5925; found: 1395.6319.

II.12 Porphyrin [60Fe^{III}]Cl

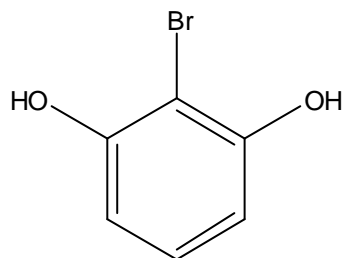
The metallation was performed under conditions similar to those used to prepare porphyrin 57Fe, using the same solvent and metal salt (porphyrin 60 (11 mg, 8.2 μ mol), FeCl₂ (large excess), and 10 mL of THF. Column chromatography (silica gel, dichloromethane/methanol, 95:5) gave 60Fe as a dark-brown solid (11 mg, 7.9 μ mol, 96 %).



HR-MS (ESI-MS): exact mass calculated for C₉₂H₈₂Fe^{II}N₈O₂H [M+H]⁺: m/z = 1387.5987; found: 1387.6805.

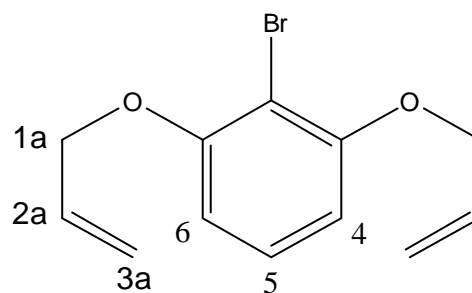
II.132-bromoresorcinol (49)

This compound was prepared according to a literature procedure.⁷⁹



II.142-bromo-1,3-diallyloxybenzene (48)

Allylbromide (1 mL, 11.6 mmol) was added to a degassed mixture of 2-bromoresorcinol (1 g, 5.29 mmol) and potassium carbonate (7.3 g, 52.5 mmol) in 60 mL of acetone. After refluxing overnight, water (20 mL) was added. The mixture was extracted three times with diethyl ether (30 mL). The combined



organic layers were dried over sodium sulfate, the solvent was removed under vacuum and the

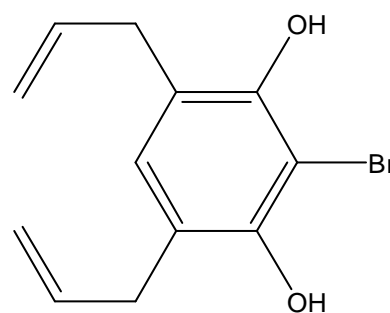
crude product was purified by flash chromatography (silica gel, dichloromethane/cyclohexane, 1:1) to yield 2,6-diallyloxy-1-bromobenzene as a yellow oil (1.35 g, 11 mmol, 95%).

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz): δ = 7.16 (t, 1H, J = 8.4 Hz, H_5), 6.55 (d, 2H, J = 8.4 Hz, $\text{H}_{3,4}$), 6.07 (ddt, 2H, J = 17.3 Hz, 10.5 Hz, and 5 Hz, H_{2a}), 5.52 (q, 1H, J = 1.7 Hz, H_{3a}), 5.46 (q, 1H, J = 1.7 Hz, H_{3a}), 5.32 (q, 2H, J = 1.6 Hz, H_{3a}), 5.28 (q, 2H, J = 1.6 Hz, H_{3a}), 4.61 (dt, 4H, J = 5 Hz, and 1.6 Hz, H_{1a}).

^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz): δ = 156.3 ($\text{C}_{1,3}$), 132.73 (C_{2a}), 128.00 (C_5), 117.61 (C_{3a}), 106.31 ($\text{C}_{4,6}$), 102.28 (C_2), 69.81 (C_{1a}).

II.152-bromo-4,6-diallylresorcinol (47)

To a solution of 2-bromo-1,3-diallyloxybenzene (2 g, 7.43 mmol) in 70 mL of dichloromethane at -78°C , boron trichloride (22 mL of a 1.0 M solution in dichloromethane, 22 mmol) was added dropwise. The mixture was stirred at -78°C for 20 min, and then slowly warmed to room temperature and stirred at room temperature for 40 min. The mixture was cooled to 0°C , and quenched with water (100 mL). The aqueous layer was extracted three times with diethyl ether. The combined organic layers were dried over sodium sulfate, and the solvent was removed under vacuum. The crude product was purified by flash chromatography (silica gel, dichloromethane/cyclohexane, 1:1) to yield a white solid (1.7 g, 6.32 mmol, 85%).



^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz): δ = 6.84 (s, 1H, H_5), 6.04-5.91 (m, 2H, H_{2a}), 5.38 (s, 2H, -OH), 5.12 (dq, 2H, J = 6.6 Hz, and 1.7 Hz, H_{3a}), 5.07 (t, 2H, J = 1.6 Hz, H_{3a}), 3.37 (dt, 4H, J = 6.4 Hz, and 1.6 Hz, H_{1a}).

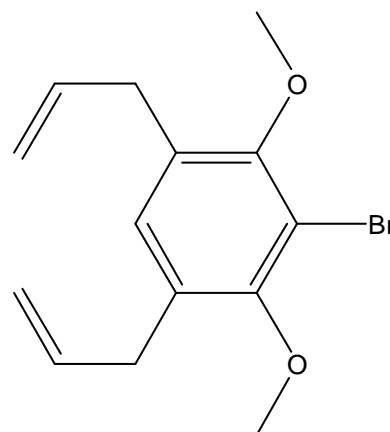
^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz): δ = 148.96 ($\text{C}_{1,3}$), 136.56 (C_{2a}), 130.28 (C_5), 118.50 ($\text{C}_{4,6}$), 115.94 (C_{3a}), 100.03 (C_2), 34.62 (C_{1a}).

ESI standard mass spectrometry: exact mass calculated for $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{BrO}_2\text{Na}$

$[\text{M}+\text{Na}]^+$: m/z = 290.9991; found: 290.9971.

II.162-bromo-4,6-diallyl-1,3-dimethoxybenzene (46)

Dimethyl sulfate (3 mL, 31.7 mmol) was slowly added to a degassed suspension of 2-bromo-4,6-diallylresorcinol (1.3 g, 4.8 mmol) and potassium carbonate (6.7 g, 48.3 mmol) in acetone (50 mL). After refluxing for 4 h, water (50 mL) was added and the mixture was extracted three times with diethyl ether (150 mL). After drying the combined organic layers over sodium sulfate, the solvent was removed under vacuum and the crude product was purified by column chromatography (silica gel, cyclohexane/ethyl acetate, 4:1) to give a yellow oil (1.3 g, 4.4 mmol, 91%).

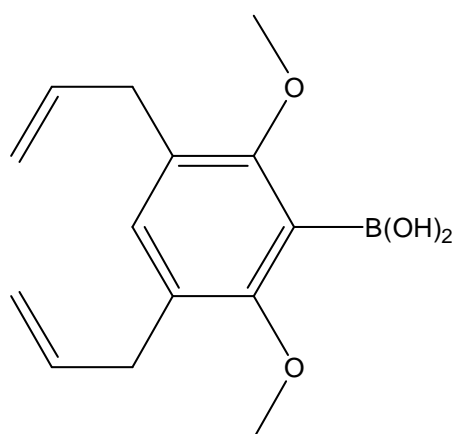


^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz): δ = 6.95 (s, 1H, H_5), 5.99-5.90 (m, 2H, H_{2a}), 5.10-5.04 (m, 4H, H_{3a}), 3.81 (s, 6H, -OMe), 3.42- 3.38 (m, 4H, H_{1a}).

^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz): δ = 154.39 ($\text{C}_{1,3}$), 136.81 (C_{2a}), 130.33 (C_5), 130.28 ($\text{C}_{4,6}$), 116.09 (C_{3a}), 113.02 (C_2), 60.98 (C_{OMe}), 34.12 (C_{1a}).

II.173,5-diallyl-2,6-dimethoxyphenyl boronic acid (45)

2-Bromo-4,6-diallyl-1,3-dimethoxybenzene (1 g, 3.4 mmol) was dissolved in 15 mL of THF and then cooled to $-78\text{ }^\circ\text{C}$. *n*-Butyl lithium (1.5 mL of a 2.5 M solution in hexane, 3.7 mmol,) was added dropwise and the mixture was stirred for 1 h at $-78\text{ }^\circ\text{C}$. After addition of trimethylborate (10.1 mmol, 1.1 mL), stirring was continued for 2 h. During this period, the mixture was allowed to warm to room temperature. After quenching with water (20 mL), the layers were separated and the aqueous layer was extracted three times with diethyl ether (60 mL). The combined organic fractions were washed with brine (30 mL) and dried over sodium sulfate. After evaporation of



the solvent, the crude material was purified by column chromatography (silica gel, ethyl acetate/cyclohexane, 3:17 then 1:1) to afford the boronic acid as a yellow oil (662 mg, 2.6 mmol, 75%), which solidified at room temperature.

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz): δ = 7.17, 7.16 (s, 3H, H_4 -B(OH) $_2$), 5.99-5.90 (m, 2H, H_{2a}), 5.12-5.04 (m, 4H, H_{3a}), 3.76 (s, 6H, -OMe), 3.39- 3.36 (m, 4H, H_{1a}).

^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz): δ = 162.29 ($\text{C}_{2,6}$), 136.61 (C_4), 135.83 (C_{2a}), 129.17 ($\text{C}_{3,5}$), 116.32 (C_{3a}), 62.85 (C_{OMe}), 33.28 (C_{1a}).

III Electrochemical studies

III.1 Cyclic voltammetry

Cyclic voltammetry was carried in CH_2Cl_2 (Sigma-Aldrich, puriss, used without further purification) containing 0.1 M Bu_4NPF_6 (FLUKA, electrochemical grade, used without further purification) as supporting electrolyte. A conventional three-electrode cell was connected to an Autolab PGSTAT20 (Eco Chemie B. V. Utrecht, Holland) computerized electrochemical device. A glassy carbon disk (TACUSSEL EDI 101 T, diameter 3 mm) served as the working electrode. The surface of the disk was polished with a felt pad (ESCIL FD 1 B) soaked with $1\mu\text{m}$ diamond suspension (ESCIL 1PS4A-1MIC) and washed with ethanol before use. A platinum wire was used as the counter electrode. In order to prevent water-contamination of the medium from the usual aqueous saturated calomel or AgCl/Ag reference electrodes, another platinum wire was used as a pseudo-reference electrode. A small amount of ferrocene was added to the medium and used as an internal reference for potentials.

III.2 Rotating Ring-Disc Electrode (RRDE) experiments



The rotating ring-disk assembly (AFMT29TGEPT from Pine Instrumentation Company) consisted of an edge-plane pyrolytic graphite disk (EPG diameter 5.6 mm) surrounded by a platinum ring (inner diameter 6.2 mm, outer diameter 7.9 mm). The EPG disk and the ring are separated by an insulating ring of Teflon. A bipotentiostat Autolab PGSTAT 30 (Eco Chemie B. V. Utrecht, Holland) was used to control the potential of the disk and to maintain the ring potential at 0.8 V vs AgCl/Ag. A platinum wire was utilized as the counter-electrode. The reference electrode was an AgCl/Ag aqueous KCl saturated electrode.

The EPG disk was cleaned with a wet 600 grit SiC paper and sonicated for 1 min in water prior to depositing a catalyst. Measurements were carried out in distilled water buffered at pH =7 (KH_2PO_4 0.05 M/ Na_2HPO_4 0.1 M, FIXANAL Riedel-de Haën) and saturated with O_2 at $p\text{O}_2 = 1$ bar. The solutions also contained 0.1 M KCl but further studies showed that the conductivity of the buffered solution without KCl was sufficient.

BIBLIOGRAPHIE

Références bibliographiques

- [1] Lippard, S. J. ; Berg, J. M. *Principe de Biochimie Minérale*, De Boeck Université: Paris-Bruxelles, **1997** ; P 349.
- [2] Lombardi, A. ; Nastri, F. ; Pavone, V. *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3165.
- [3] a) Meunier, B. ; De Visser, S. V. ; Shaik, S. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 3947.
b) Banci, L. *J. Biotechnol.* **1997**, *53*, 253.
- [4] Adachi, S. ; Nagano, S. ; Ishimori, K. ; Watanabe, Y. ; Morishima, I. ; Egawa, T. ; Kitagawa, T. ; Makino, R. *Biochemistry* **1993**, *32*, 241.
- [5] Boulatov, R. *N₄-Macrocyclic Metal Complexes*, edited by Zagal, J., H.; Bedoui, F.; Dodelet, J. P., Springer Science+business Media, Inc., New York, **2006**.
- [6] a) Tsukihara, T. ; Aoyama, H. ; Yamashita, E. ; Tomizaki, T. ; Yamaguchi, H. ; Shinzawa-Itoh, K. ; Nakashima, R. ; Yaono, R. ; Yoshikawa, S. *Science* **1995**, *272*, 1069.
b) Iwata, S. ; Ostermeier, C. ; Ludwig, B. ; Michel, H. *Nature* **1995**, *376*, 660.
c) Tsukihara, T. ; Aoyama, H. ; Yamashita, E. ; Tomizaki, T. ; Yamaguchi, H. ; Shinzawa-Itoh, K. ; Nakashima, R. ; Yaono, R. ; Yoshikawa, S. *Science* **1996**, *272*, 1136.
- [7] Yoshikawa, S. ; Shinzawa-Itoh, K. ; Nakashima, R. ; Yaono, R. ; Yamashita, E. ; Inoue, N. ; Yao, M. ; Fei, M. J. ; Libeu, C. P. ; Mizushima, T. ; Yamaguchi, H. ; Tomizaki, T. ; Tsukihara, T. *Science* **1998**, *280*, 1723.
- [8] Tsukihara, T. ; Shimokata, K. ; Katayama, Y. ; Shimida, H. ; Muramoto, K. ; Aoyama, H. ; Mochizuki, M. ; Shinzawa-Itoh, K. ; Yamashita, E. ; Yao, M. ; Ishimura, Y. ; Yoshikawa, S. *PNAS* **2003**, *100*, 15304.
- [9] Kim, E. ; Chufan, E. E. ; Kamaraj, K. ; Karlin, K. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 1077
- [10] Saraste, M. *Science* **1999**, *283*, 1488
- [11] Hosler, J. P. ; Ferguson-Miller, S. ; Mills, D. A. *Annu. Rev. Biochem.* **2006**, *75*, 165.
- [12] Varotsis, C. ; Zhang, Y. ; Appelman, E. H. ; Babcock, G. T. *PNAS* **1993**, *90*, 237.
- [13] Chance, B. ; Saronio, C. ; Leigh, J. S. *J. Biol. Chem.* **1975**, *250*, 9226.
- [14] Proshlyakov, D. A. ; Pressler, M. A. ; Babcock, G. T. *PNAS* **1998**, *95*, 8020.
- [15] Gorbikova, E. A. ; Belevich, I. ; Wikström, M. ; Verkhovsky, M. I. *PNAS* **2008**, *105*, 10737.
- [16] a) Hill, B. C. *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 2419.
b) Hill, B. C. *J. Biol. Chem.* **1991**, *266*, 2219.

- [17] a) Proshlyakov, D. A. ; Pressler, M. A. ; Demaso, C. ; Leykam, J. F. ; Dewitt, D. L. ; Babcock, G. T. *Science* **2000**, *290*, 1588.
b) Babcock, G. T. *PNAS* **1999**, *96*, 12971.
- [18] Morgan, J. E. ; Verkhovsky, M. I. ; Palmer, G ; Wikström, M. *Biochemistry* **2001**, *40*, 6882.
- [19] Han, S. ; Ching, Y. ; Rousseau, D. L. *PNAS* **1990**, *87*, 8408.
- [20] a) Fabian, M. ; Palmer, G. *Biochemistry* **1995**, *34*, 13802.
b) Michel, H. ; Behr, J. ; Harrenga, A. ; Kannt, A. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **1998**, *27*, 329.
- [21] Gorbikova, E. A. ; Wikström, M. ; Verkhovsky, M. I. *J. Biolog. Chem.* **2008**, *283*, 34907.
- [22] a) Ferguson-Miller, S. ; Babcock, G. T. *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 2889.
b) Siletsky, S. A. ; Han, D. ; Brand, S. ; Morgan, J. E. ; Fabian, M. ; Geren, L. ; Millett, F. ; Durham, B. ; Konstantinov, A. A. ; Gennis, R. B. *Biochemica et Biophysica Acta* **2006**, *1757*, 1122.
c) Michel, H. *PNAS* **1998**, *95*, 12819.
d) Gennis, R. B. *PNAS* **1998**, *95*, 12747.
- [23] Hellwig, P. ; Pfitzner, U. ; Behr, J. ; Rost, B. ; Pesavento, R. P. ; von DonK, W.; Gennis, R. B. ; Michel, H. ; Ludwig, B. ; Maentele, W. *Biochemistry* **2001**, *41*, 9116.
- [24] Yeung, Y. ; Lu, Y. *Chemistry & biodiversity* **2008**, *5*, 1437.
- [25] Collman, J. P. ; Herrmann, P. C. ; Boitrel, B. ; Zhang, X. ; Eberspacher, T. A. ; Fu, L. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 9783.
- [26] Collman, J. P. *Inorg. Chem.* **1997**, *36*, 5145.
- [27] Collman, J. P. ; Fu, L. ; Herrmann, P. C. ; Zhang, X. *Science* **1997**, *275*, 949.
- [28] Collman, J. P. ; Boulatov, R. ; Sunderland, C. J. ; Fu, L. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 561.
- [29] Collman, J. P. ; Fu, L. ; Herrmann, P. C. ; Wang, Z. ; Rapta, M. ; Brörning, M. ; Schwenninger, R. ; Boitrel, B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 3397.
- [30] Collman, J. P. ; Schwenninger, R. ; Rapta, M. ; Bröring, M. ; Fu, L. *Chem. Commun.* **1999**, 137.
- [31] Ricard, D. ; Andrioletti, B. ; L'Her, M. ; Boitrel, B. *Chem. Commun.* **1999**, 1523.
- [32] a) Ricard, D. ; L'Her, M. ; Richard, P. ; Boitrel, B. *Chem. Eur. J.* **2001**, *7*, 3291.
b) Ricard, D.; Didier, A.; L'Her, M. ; Boitrel, B. *C. R. Chimie* **2002**, *5*, 33.
- [33] a) Didier, A.; L'Her, M.; Boitrel, B. *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 1274.
b) Ricard, D.; Didier, A. ; L'Her, M. ; Boitrel, B. *Chembiochem* **2001**, *2*, 144.
c) Andrioletti, B.; Ricard, D.; Bernard, B. *New J. Chem.* **1999**, *23*, 1143.

- [34] Collman, J. P. ; Rapta, M. ; Bröring, M. ; Raptova, L. ; Schwenninger, R. ; Boitrel, B. ; Fu, L. ; L'Her, M. J; *Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 1387.
- [35] Collman, J. P. ; Sunderland, C. J. ; Boulatov, R. *Inorg. Chem.* **2002**, *41*, 2282.
- [36] Boulatov, R. ; Collman, J. P. ; Shiryayeva, I. M. ; Sunderland, C. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 11923.
- [37] Collman, J. P. ; Sunderland, C. J. ; Berg, K. E. ; Vance, M. A. ; Solomon, E. I. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 6648.
- [38] Collman, J. P. ; Decréau, R. A. ; Sunderland, C. J. *Chem. Commun.* **2006**, 3894.
- [39] Collman, J. P. ; Decréau, R. A. ; Zhang, C. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 3546.
- [40] Collman, J. P. ; Decréau, R. A. ; Yan, Y. ; Yoon, J. ; Solomon, E. I. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 5794.
- [41] Ghiladi, R. A. ; Chufan, E. E. ; Del Rio, D. ; Solomon, E. I. ; Krebs, C. ; Huynh, B. H. ; Huang, H. W. ; Loccoz, P. M. ; Kaderli, S. ; Honecker, M. ; Zuberbühler, A. D. ; Marzilli, L. ; Cotter, R. J. ; Karlin, K. D. *Inorg. Chem.* **2007**, *46*, 3889.
- [42] Kim, E. ; Helton, M. E. ; Wasser, I. M. ; Karlin, K. D. ; Lu, S. ; Huang, H. W. ; Möenne-Loccoz, P. ; Incarvito, C. D. ; Rheingold, A. L. ; Honecker, M. ; Kardeli, S. ; Zuberbühler, A. D. *PNAS* **2003**, *100*, 3623.
- [43] Kim, E. ; Kamaraj, K. ; Galliker, B. ; Rubie, N. D. ; Möenne-Loccoz, P. ; Kardeli, S. ; Zuberbühler, A. D. ; Karlin, K. D. *Inorg. Chem.* **2005**, *44*, 1238.
- [44] a) Obias, H. V. ; Van Strijdonck, G. P. F. ; Lee, D. H. ; Ralle, M. ; Blackburn, N. J. ; Karlin, K. D. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 9696.
- b) Ghiladi, R. A. ; Huang, H. W. ; Möenne-Loccoz, P. ; Stasser, J. ; Blackburn, N. J. ; Woods, A. S. ; Cotter, R. J. ; Incarvito, C. D. ; Rheingold, A. L. ; Karlin, K. D. *J. Biol. Inorg. Chem.* **2005**, *10*, 63.
- [45] Ju, D. T. ; Ghiladi, R. A. ; Lee, D. H. ; Van Strijdonck, G. F. P. ; Woods, A. S. ; Cotter, R. J. ; Young Jr. V. G. ; Karlin, K. D. *Inorg. Chem.* **1999**, *38*, 2244.
- [46] Ghiladi, R. A. ; Ju, T. D. ; Lee, D. H. ; Möenne-Loccoz, P. ; Kadreli, S. ; Neuhold, Y. M. ; Zuberbühlér, A. D. ; Woods, A. S. ; Cotter, R. J. ; Karlin, K. D. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 9885.
- [47] a) Kim, E. ; Shearer, J. ; Lu, S. ; Möenne-locco, P. ; Helton, M. E. ; Kaedeli, S. ; Zuberbühler, A. D. ; Karlin, K. D. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 12716.
- b) Kim, E. ; Helton, M. E. ; Lu, S. ; Möenne-Loccoz, P. ; Incarvito, C. D. ; Rheingold, A. L. ; Kardeli, S. ; Zuberbühler, A. D. ; Kalin, K. D. *Inorg. Chem.* **2005**, *44*, 7014.

- [48] a) Chufan, E. E. ; Mondal, B. ; Ghandi, T. ; Kim, E. ; Rubie, N. D. ; Möenne-Loccoz, P. ; Karlin, K. D. *Inorg. Chem.* **2007**, *46*, 6382.
- b) Chufan, E. E. ; Puiu, S. C. ; Karlin, K. D. *Acc. Chem. Res.* **2007**, *40*, 563.
- [49] Sasaski, T. ; Nakamura, N. ; Naruta, Y. *Chem. Lett.* **1998**, 351.
- [50] Naruta, Y. ; Sasaki, T. ; Tani, F. ; Tachi, Y. ; Kawato, N. ; Nakamura, N. *J. Inorg. Biochem.* **2001**, *83*, 239.
- [51] Chishiro, T. ; Shimazaki, Y. ; Tani, F. ; Tachi, Y. ; Naruta, Y. ; Karasawa, S. ; Hayami, S. ; Maeda, Y. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 2788.
- [52] Chishiro, T. ; Shimazaki, Y. ; Tani, F. ; Naruta, Y. *Chem. Commun.* **2005**, 1079.
- [53] Liu, J. G. ; Naruta, Y. ; Tani, F. ; Chishiro, T. ; Tachi, Y. *Chem. Commun.* **2004**, 120.
- [54] Liu, J. G. ; Naruta, Y. ; Tani, F. *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 6365.
- [55] Kopf, M. A. ; Karlin, K. D. *Inorg. Chem.* **1999**, *38*, 4922.
- [56] Liu, J. G. ; Naruta, Y. ; Tani, F. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 1836.
- [57] Collman, J. P. ; Fudickar, W. ; Shiryaeva, I. *Inorg. Chem.* **2003**, *42*, 3384.
- [58] Collman, J. P. ; Boulatov, R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 3487.
- [59] Sigman, J. A. ; Kim, H. K. ; Zhao, X. ; Carey, J. R. ; Lu, Y. *PNAS*, **2003**, *100*, 3629.
- [60] Collman, J. P. ; Shiryaeva, I. M. ; Boulatov, R. *Inorg. Chem.* **2003**, *42*, 4807.
- [61] Kolb, H. C. ; Finn, M. G. ; Sharpless, K. B. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004.
- [62] Décreau, R. A. ; Collman, J. P. ; Yang, Y. ; Yan, Y. ; Devaraj, N. K. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 2794.
- [63] a) Collman, J. P. ; Devaraj, N. K. ; Décreau, R. A. ; Yang, Y. ; Yan, Y. ; Ebina, W. ; Eberspacher, T. A. ; Chidsey, C. E. D. *Science*, **2007**, 315, 1565.
- b) Collman, J. P. ; Décreau, R. A. *Chem. Commun.* **2008**, 5065.
- [64] Melin, F. *Thèse ULP Strasbourg*, **2005**.
- [65] Melin, F. ; Boudon, C. ; Lo, M. ; Schenk, K. J. ; Bonin, M. ; Ochsenein, P. ; Gross, M. ; Weiss, J. *J. Porphyrins Phthalocyanines* **2007**, *11*, 212.
- [66] Giraudeau, A. ; Gisselbrecht, J. P. ; Gross, M. ; Weiss, J. *Chem. Commun.* **1993**, 1103.
- [67] Ferrand, Y. ; Le Maux, P. ; Simonneaux, G. *Tetrahedron. Asym.* **2005**, *16*, 3829.
- [68] Kadish, K. M. ; Smith, K. M. ; Guillard, R. *Porphyrin Handbook* **2000**, Academic Press.
- [69] a) Cullen, D. L. ; Meyer, E. F. Jr. ; Smith, K. M. *Inorg. Chem.* **1977**, *16*, 1179.
- b) Guillard, R. ; Lecomte, C. ; Kadish, K. M. *In Structure and Bonding* **1987**, 205.
- [70] Scheidt, W. R. ; Lee, Y. J. *In Structure and bonding*, **1987**, 64, 1.
- [71] Gouterman, M. J. *Chem. Phys.* **1959**, *30*, 1939.

- [72] Gouterman, M. J. *J Mol. Spectroscopy* **1961**, 6, 138.
- [73] NMR and EPR ; Kadish, K. M. ; Smith, K. M. ; Guillard, R. *Porphyrin Handbook*, **2000**, 5, 1-80, Academic Press.
- [74] Wytko, J. A. ; Graf, E. ; Weiss, J. *Org. Chem.* **1992**, 57, 1015.
- [75] a) Noblat, S. ; Dietrich-Buchecker, C. O. ; Sauvage, J. P. *Tetrahedron Lett.* **1987**, 28, 5829.
- b) Dietrich-Buchecker, C. O. ; Marnot, P. A. ; Sauvage, J. P. *Tetrahedron Lett.* **1982**, 23, 5291.
- [76] Wang, Q. M. ; Bruce, W. D. *Synlett.* **1995**, 12, 1267.
- [77] Froideveaux, J. ; *Thèse ULP Strasbourg*, **1998**.
- [78] Froidevaux, J. ; Ochsenbein, P. ; Bonin, M. ; Schenk, K. ; Maltese, P. ; Gisselbrecht, J.-P. ; Weiss, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 12362.
- [79] Kielhmann, E. ; Lauener, R. W. *Can. J. Chem.* **1989**, 67, 335.
- [80] Kota, S. ; Mandal, K. *Tetrahedron Lett.* **2004**, 45, 2585.
- [81] Lüning, U. ; Fahrenkrug, F. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 3119.
- [82] a) Suzuki, A. *Chem. Commun.* **2005**, 4759.
- b) Watanabe, T. ; Miyaura, N. ; Suzuki, A. *Synlett.* **1992**, 207.
- [83] Melin, F. ; Choua, S. ; Bernard, M. ; Turek, P. ; Weiss, J. *Inorg. Chem.* **2006**, 45, 10750.
- [84] Miyaura, N. *Top. Curr. Chem.* **2002**, 219, 11.
- [85] DiMagno, S. G. ; Lin, V. S. -Y. ; Therien, M. J. *J. Org. Chem.* **1993**, 58, 5983.
- [86] Koepf, M. ; Wytko, J. A. ; Bucher, J. -P. ; Weiss, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 9994.
- [87] Suzuki, A. *Journal of organometallic chemistry* **1999**, 576, 147.
- [88] Lutz, R. P. *Chem. Rev.* **1984**, 84, 206.
- [89] a) Nagawa, Y. ; Fukazawa, N. ; Suga, J. -I. ; Horn, M. ; Tokuhisa, H. ; Hiratani, K. ; Watanabe, K. *Tetrahedron Lett.* **2000**, 41, 9261.
- b) Tokuhisa, H. ; Nagawa, Y. ; Uzawa, H. ; Hiratani, K. *Tetrahedron Lett.* **1999**, 40, 8007.
- c) Hiratani, K. ; Uzawa, H. ; Kasuga, K. ; Kambayashi, H. *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 8993.
- [90] Moffett, R. B. *J. Chem. Eng. Data* **1980**, 25, 176.
- [91] White, W. ; Wolfarth, E. F. *J. Org. Chem.* **1970**, 35, 2196.
- [92] Chauvin, Y. ; Grubbs, R. H. ; Schrock, R. R. *Prix nobel de Chimie*, **2005**.
- [93] Grubbs, R. H. ; Miller S. J. ; Fu, G. C. *Acc. Chem. Res.* **1995**, 28, 446.
- [94] Buchmeiser, M. R. *Chem. Rev.* **2000**, 100, 1565.

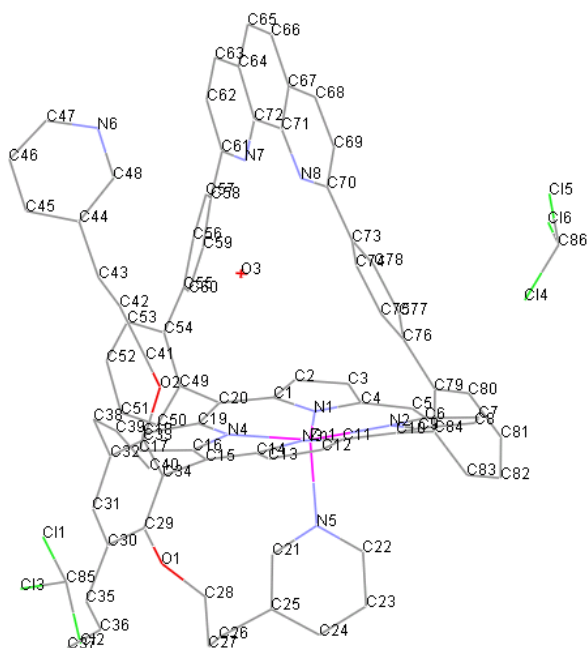
- [95] Connon, S. J. ; Blechert, S. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2003**, *42*, 1900.
- [96] a) Liu, X. ; Sternberg, E. ; Dolphin, D. *Chem. Commun.* **2004**, *57*, 852.
b) Liu, X. ; Sternberg, E. ; Dolphin, D. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 6542.
- [97] Langford, S. J. ; Latter, M. J. ; Woodward, C. P. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 2595.
- [98] a) Cheng, J. ; Chunming, Z. ; Stevens, E. D. ; Izenwasser, S. ; Wade, D. Chen, S. ; Paul, D. ; Trudell, M. L. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 3041.
b) Solladié, G. ; Somny, F. ; Colobert, F. *Tetrahedron Asym.* **1997**, *8*, 801.
- [99] Aissaoui, H. ; Ghirlanda, S. ; Gmür, C. ; Woggon, W. –D. *J. Mol. Catalysis A: Chemical* **1996**, *113*, 393.
- [100] a) Momenteau, M. ; Mispelter, J. ; Loock, B. ; Lhoste, J. –M. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1985**, 1493.
b) Momenteau, M. ; Loock, B. ; Huel, C. ; Lhoste, J. –M. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1988**, 283.
- [101] a) Paul, D. ; Melin, F. ; Hirtz, C. ; Wytko, J. ; Ochsenbein, P. ; Bonin, M. ; Schenk, K. ; Maltese, P. ; Weiss, J. *Inorg. Chem.* **2003**, *42*, 3779.
b) Froidevaux, J. ; Ochsenbein, P. ; Bonin, M. ; Schenk, K. ; Maltese, P. ; Gisselbrecht, J. –P. ; Weiss, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 12362.
- [102] Weyermann, P. ; Gisselbrecht, J. –P. ; Boudon, C. ; Gross, M. ; Diederich, F. *Helv. Chim. Acta* **2002**, *85*, 571.
- [103] La Mar, G. N. ; Satterlee, J. D. ; De Ropp, J. S. *NMR and EPR ; The Porphyrin Handbook*, **2000**, *5*, 212 Ed. Kadish, K. M. ; Smith, K. M. ; Guillard, R. Academic Press.
- [104] a) Brackett, G. C. ; Richards, P. L. *J. Chem. Phys.* **1971**, *54*, 4383.
b) Krzystek, J. ; Ozarowski, A. ; Telsler, J. *Coord. Chem. Rev.* **2006**, *250*, 2308.
c) Hagen, R. W. *Coord. Chem. Rev.* **1999**, *190-192*, 209.
- [105] Tang, S. C. ; Koch, S. ; Papaefthymiou, G. C. ; Foner, S. ; Frankel, R. B. ; Ibers, J. A. ; Holm, R. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98*, 2414.
- [106] Walker, F. A. ; Lo, M.-W. ; Ree, M. T. *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98*, 5552.
- [107] a) Collman, J. P. ; Gagne, R. R. ; Halbert, T. R. ; Marchon, J. C. ; Reed, C. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 7868.
b) Collman, J. P. ; Herrmann, P. C. ; Fu, L. ; Eberspacher, P. A. ; Eubanks, M. ; Boitrel, B. ; Hayoz, P. Zhang, X. ; Brauman, J. I. ; Day, V. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 3481.
- [108] a) Yatsunyk, L. A. ; Walker, F. A. *Inorg. Chem.* **2004**, *43*, 757.
b) Walker, F. A. ; Reis, D. ; Balke, V. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 6888.
- [109] Yatsunyk, L. A. ; Shokhirev, N. V. ; Walker, F. A. *Inorg. Chem.* **2005**, *44*, 2848.

- [110] Goff, H. ; La Mar, N. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *99*, 6599.
- [111] Boyd, P. D. W. ; Buckingham, D. A. ; McMeeking, R. F. ; Mitra, F. *Inorg. Chem.* **1979**, *18*, 3585.
- [112] Ruzié, C. *Thèse Université Rennes 1*, **2005**.
- [113] Weyermann, P. ; Diederich, F. *Helv. Chem. Acta* **2002**, *85*, 599.
- [114] Collman, J. P. ; Decréau, R. A. ; Dey, A. ; Yang, Y. *PNAS* **2009**, *106*, 4101.
- [115] Bottomley, L. A. ; Kadish, K. M. *Inorg. Chem.* 1981, *20*, 1348.
- [116] Shighara, K. ; Anson, F. C. *J. Phys. Chem.* **1982**, *86*, 2776.
- [117] Shi, C. ; Anson, F. C. *Inorg ; Chem.* **1990**, *29*, 4298.
- [118] Collman, J. P. ; Ghosh, S. ; Dey, A. ; Decréau, R. A. ; Yang, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 5034.
- [119] Pesavento, R. P. ; Pratt, D. A. ; Jeffers J. ; van der Donk, W. A. *Dalton Trans.* **2006**, 3326.
- [120] Charalambidis, G. ; Ladomenou, K ; Boitrel, B. ; Coutsolelos, A. G. *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, 1263.

PARTIE ANNEXE

Cristal data for 57Zn

Chemical formula	$C_{84} H_{62} N_8 O_2 Zn(C H Cl_3)_2, H_2 O$	
Formula weight	1534.54	
Symmetry cell	Triclinic	
Space group	P-1	
Unit cell Dimension	$a = 12.7416(3)$	$\alpha = 77.8380(10)$
	$b = 13.0016(3)$	$\beta = 86.0080(10)$
	$c = 29.9379(7)$	$\gamma = 68.139(2)$
Volume	$3622.39(16) \text{ \AA}^3$	
Z	2	
Crystal size	0.4 x 0.3 x 0.25	
Colour	Dark purple	
Density	1.410	
F(000)	1588	
Absorption coefficient	0.619 mm^{-1}	
Cell measurement temperature	173(2) K	
Radiation wavelength	0.71073 \AA	
Radiation type	MoK α	
Radiation source	Fine-focus	
Radiation monochromator	Graphite	
Measurement device type	Kappa CCD	
Measurement method	Phi	
Theta range for data collection	1.71 to 27.27°	
Limiting indices	$-14 \leq h \leq 16, -16 \leq k \leq 16, -31 \leq l \leq 29$	
Reflections number	39872	
Reflections collected	16498	
Independent reflections	11006 ($I > 2\sigma$)	
Goodness-of-fit on F^2	1.034	
R indices all data	$R1 = 1.333, wR2 = 0.224$	
Final R indices [$I > 2\sigma(I)$]	$R1 = 0.0866, wR2 = 0.2002$	



Structure cristallographique de 57Zn

Bond lengths (Å) for 57Zn

C1	N1	1.377(5)	C24	H24	0.9500
C1	C20	1.404(6)	C25	C26	1.503(6)
C1	C2	1.436(6)	C26	C27	1.539(7)
C2	C3	1.350(7)	C26	H26A	0.9900
C2	H2	0.9500	C26	H26B	0.9900
C3	C4	1.442(6)	C27	C28	1.504(7)
C3	H3	0.9500	C27	H27A	0.9900
C4	N1	1.366(5)	C27	H27B	0.9900
C4	C5	1.397(6)	C28	O1	1.442(5)
C5	C6	1.392(6)	C28	H28A	0.9900
C5	H5	0.9500	C28	H28B	0.9900
C6	N2	1.370(5)	C29	C30	1.383(6)
C6	C7	1.448(6)	C29	C34	1.399(6)
C7	C8	1.354(7)	C29	O1	1.402(5)
C7	H7	0.9500	C30	C31	1.390(6)
C8	C9	1.444(6)	C30	C35	1.521(6)
C8	H8	0.9500	C31	C32	1.398(6)
C9	N2	1.372(5)	C31	H31	0.9500
C9	C10	1.409(6)	C32	C33	1.387(6)
C10	C11	1.400(6)	C32	C38	1.508(6)
C10	C84	1.507(6)	C33	O2	1.390(5)
C11	N3	1.382(5)	C33	C34	1.401(6)
C11	C12	1.434(6)	C35	C36	1.478(8)
C12	C13	1.354(6)	C35	H35A	0.9900

C12	H12	0.9500	C35	H35B	0.9900
C13	C14	1.439(6)	C36	C37	1.315(9)
C13	H13	0.9500	C36	H36	0.9500
C14	N3	1.380(5)	C37	H37A	0.9500
C14	C15	1.399(6)	C37	H37B	0.9500
C15	C16	1.405(6)	C38	C39	1.479(7)
C15	C34	1.509(6)	C38	H38A	0.9900
C16	N4	1.368(5)	C38	H38B	0.9900
C16	C17	1.438(6)	C39	C40	1.304(8)
C17	C18	1.357(6)	C39	H39	0.9500
C17	H17	0.9500	C40	H40A	0.9500
C18	C19	1.433(6)	C40	H40B	0.9500
C18	H18	0.9500	C41	O2	1.454(6)
C19	N4	1.373(5)	C41	C42	1.498(7)
C19	C20	1.409(6)	C41	H41A	0.9900
C20	C49	1.501(6)	C41	H41B	0.9900
C21	N5	1.343(6)	C42	C43	1.517(8)
C21	C25	1.384(6)	C42	H42A	0.9900
C21	H21	0.9500	C42	H42B	0.9900
C22	N5	1.336(6)	C43	C44	1.518(7)
C22	C23	1.376(7)	C43	H43A	0.9900
C22	H22	0.9500	C43	H43B	0.9900
C23	C24	1.389(8)	C44	C45	1.361(8)
C23	H23	0.9500	C44	C48	1.408(8)
C24	C25	1.369(7)	C45	C46	1.373(9)
C45	H45	0.9500	C71	N8	1.361(6)
C46	C47	1.345(9)	C71	C72	1.439(6)
C46	H46	0.9500	C72	N7	1.359(5)
C47	N6	1.314(7)	C73	C74	1.382(6)
C47	H47	0.9500	C73	C78	1.396(6)
C48	N6	1.325(7)	C74	C75	1.386(6)
C48	H48	0.9500	C74	H74	0.9500
C49	C50	1.402(6)	C75	C76	1.401(6)
C49	C54	1.410(6)	C75	H75	0.9500
C50	C51	1.372(6)	C76	C77	1.394(6)
C50	H50	0.9500	C76	C79	1.486(6)
C51	C52	1.375(7)	C77	C78	1.393(6)
C51	H51	0.9500	C77	H77	0.9500
C52	C53	1.378(6)	C78	H78	0.9500
C52	H52	0.9500	C79	C84	1.403(6)
C53	C54	1.394(6)	C79	C80	1.405(6)
C53	H53	0.9500	C80	C81	1.384(7)
C54	C55	1.499(6)	C80	H80	0.9500
C55	C56	1.389(6)	C81	C82	1.378(7)
C55	C60	1.401(6)	C81	H81	0.9500
C56	C57	1.388(6)	C82	C83	1.383(6)
C56	H56	0.9500	C82	H82	0.9500
C57	C58	1.391(6)	C83	C84	1.392(6)
C57	H57	0.9500	C83	H83	0.9500
C58	C59	1.392(6)	C85	Cl3	1.717(7)

C58	C61	1.491(6)	C85	C11	1.757(8)
C59	C60	1.391(6)	C85	C12	1.763(7)
C59	H59	0.9500	C85	H85	1.0000
C60	H60	0.9500	C86	C14	1.669(7)
C61	N7	1.328(5)	C86	C15	1.677(7)
C61	C62	1.412(6)	C86	C16	1.747(7)
C62	C63	1.377(6)	C86	H86	1.0000
C62	H62	0.9500	N1	Zn1	2.061(3)
C63	C64	1.395(6)	N2	Zn1	2.057(3)
C63	H63	0.9500	N3	Zn1	2.058(3)
C64	C72	1.419(6)	N4	Zn1	2.078(3)
C64	C65	1.442(6)	N5	Zn1	2.166(4)
C65	C66	1.352(7)	O3	H1W	0.8790
C65	H65	0.9500	O3	H2W	0.8610
C66	C67	1.422(6)			
C66	H66	0.9500			
C67	C68	1.393(6)			
C67	C71	1.422(6)			
C68	C69	1.367(7)			
C68	H68	0.9500			
C69	C70	1.412(6)			
C69	H69	0.9500			
C70	N8	1.327(6)			
C70	C73	1.489(6)			

Angles (°) for 57Zn

N1-C1-C20	125.2(4)	N4-C19-C20	124.9(4)
N1-C1-C2	109.1(4)	N4-C19-C18	109.5(3)
C20-C1-C2	125.6(4)	C20-C19-C18	125.5(4)
C3-C2-C1	107.5(4)	C1-C20-C19	125.6(4)
C3-C2-H2	126.2	C1-C20-C49	117.6(4)
C1-C2-H2	126.2	C19-C20-C49	116.8(4)
C2-C3-C4	107.0(4)	N5-C21-C25	124.3(4)
C2-C3-H3	126.5	N5-C21-H21	117.9
C4'-C3-H3	126.5	C25-C21-H21	117.9
N1-C4-C5	125.4(4)	N5-C22-C23	122.6(5)
N1-C4-C3	109.5(4)	N5-C22-H22	118.7
C5-C4-C3	125.0(4)	C23-C22-H22	118.7
C6-C5-C4	126.6(4)	C22-C23-C24	118.7(5)
C6-C5-H5	116.7	C22-C23-H23	120.7
C4-C5-H5	116.7	C24-C23-H23	120.7
N2-C6-C5	124.9(4)	C25-C24-C23	120.1(5)
N2-C6-C7	109.3(4)	C25-C24-H24	119.9
C5-C6-C7	125.7(4)	C23-C24-H24	119.9
C8-C7-C6	107.2(4)	C24-C25-C21	116.9(4)
C8-C7-H7	126.4	C24-C25-C26	123.4(4)
C6-C7-H7	126.4	C21-25-C26	119.6(4)
C7-C8-C9	107.0(4)	C25-C26-C27	112.2(4)
C7-C8-H8	126.5	C25-C26-H26A	109.2

C9-C8-H8	126.5	C27-C26-H26A	109.2
N2-C9-C10	124.6(4)	C25-C26-H26B	109.2
N2-C9-C8	109.6(4)	C27-C26-H26B	109.2
C10-C9-C8	125.7(4)	H26A-C26-H26B	107.9
C11-C10-C9	125.9(4)	C28-C27-C26	114.2(4)
C11-C10-C84	116.6(4)	C28-C27-H27A	108.7
C9-C10-C84	117.5(4)	C26-C27-H27A	108.7
N3-C11-C10	125.4(4)	C28-C27-H27B	108.7
N3-C11-C12	109.7(3)	C26-C27-H27B	108.7
C10-C11-C12	124.7(4)	H27A-C27-H27B	107.6
C13-C12-C11	107.3(4)	O1-C28-C27	110.2(4)
C13-C12-H12	126.3	O1-C-28-H28A	109.6
C11-C12-H12	126.3	C27-C28-H28A	109.6
C12-C13-C14	107.2(4)	O1-C28-H28B	109.6
C12-C13-H13	126.4	C27-C28-H28B	109.6
C14-C13-H13	126.4	H28A-C28-H28B	108.1
N3-C14-C15	125.0(4)	C30-C29-C34	122.1(4)
N3-C14-C13	109.6(3)	C30-C29-O1	119.5(4)
C15-C14-C13	125.4(4)	C34-C29-O1	118.4(4)
C14-C15-C16	125.9(4)	C29-C30-C31	117.8(4)
C14-C15-C34	115.3(4)	C29-C30-C35	123.7(4)
C16-C15-C34	118.7(3)	C31-C30-C35	118.5(4)
N4-C16-C15	124.6(4)	C30-C31-C32	122.5(4)
N4-C16-C17	109.6(4)	C30-C31-H31	118.8
C15-C16-C17	125.6(4)	C32-C31-H31	118.8
C18-C17-C16	106.9(4)	C33-C32-C31	117.8(4)
C18-C17-H17	126.5	C33-C32-C38	122.1(4)
C16-C17-H17	126.5	C31-C32-C38	120.1(4)
C17-C18-C19	107.2(4)	C32-C33-O2	117.7(4)
C17-C18-H18	126.4	C32-C33-C34	121.6(4)
C19-C18-H18	126.4	O2-C33-C34	120.6(4)
C29-C34-C33	118.0(4)	N6-C47-C46	125.0(5)
C29-C34-C15	121.0(3)	N6-C47-H47	117.5
C33-C34-C15	120.7(3)	C46-C47-H47	117.5
C36-C35-C30	113.4(4)	N6-C48-C44	123.7(5)
C36-C35-H35A	108.9	N6-C48-H48	118.1
C30-C35-H35A	108.9	C44-C48-H48	118.1
C36-C35-H35B	108.9	C50-C49-C54	118.6(4)
C30-C35-H35B	108.9	C50-C49-C20	118.3(4)
H35A-C35-H35B	107.7	C54-C49-C20	123.1(4)
C37-C36-C35	125.7(7)	C51-C50-C49	121.9(4)
C37-C36-H36	117.2	C51-C50-H50	119.0
C35-C36-H36	117.2	C49-C50-H50	119.0
C36-C37-H37A	120.0	C50-C51-C52	119.8(4)
C36-C37-H37B	120.0	C50-C51-H51	120.1
H37A-C37-H37B	120.0	C52-C51-H51	120.1
C39-C38-C32	115.2(4)	C51-C52-C53	119.3(4)
C39-C38-H38A	108.5	C51-C52-H52	120.4
C32-C38-H38A	108.5	C53-C52-H52	120.4
C39-C38-H38B	108.5	C52-C53-C54	122.6(4)

C32-C38-H38B	108.5	C52-C53-H53	118.7
H38A-C38-H38B	107.5	C54-C53-H53	118.7
C40-C39-C38	128.6(5)	C53-C54-C49	117.8(4)
C40-C39-H39	115.7	C53-C54-C55	118.4(4)
C38-C39-H39	115.7	C49-C54-C55	123.8(4)
C39-C40-H40A	120.0	C56-C55-C60	117.3(4)
C39-C40-H40B	120.0	C56-C55-C54	120.2(4)
H40A-C40-H40B	120.0	C60-C55-C54	122.2(4)
O2-C41-C42	111.3(4)	C57-C56-C55	121.7(4)
O2-C41-H41A	109.4	C57-C56-H56	119.1
C42-C41-H41A	109.4	C55-C56-H56	119.1
O2-C41-H41B	109.4	C56-C57-C58	120.9(4)
C42-C41-H41B	109.4	C56-C57-H57	119.6
H41A-C41-H41B	108.0	C58-C57-H57	119.6
C41-C42-C43	112.0(4)	C57-C58-C59	117.9(4)
C41-C42-H42A	109.2	C57-C58-C61	122.6(4)
C43-C42-H42A	109.2	C59-C58-C61	119.5(4)
C41-C42-H42B	109.2	C60-C59-C58	121.1(4)
C43-C42-H42B	109.2	C60-C59-H59	119.5
H42A-C42-H42B	107.9	C58-C59-H59	119.5
C42-C43-C44	114.2(5)	C59-C60-C55	121.0(4)
C42-C43-H43A	108.7	C59-C60-H60	119.5
C44-C43-H43A	108.7	C55-C60-H60	119.5
C42-C43-H43B	108.7	N7-61-C62	122.7(4)
C44-C43-H43B	108.7	N7-C61-C58	117.0(4)
H43A-C43-H43B	107.6	C62-C61-C58	120.3(4)
C45-C44-C48	117.0(5)	C63-C62-C61	118.9(4)
C45-C44-C43	120.5(5)	C63-C62-H62	120.6
C48-C44-C43	122.5(5)	C61-C62-H62	120.6
C44-C45-C46	119.2(5)	C62-C63-C64	119.7(4)
C44-C45-H45	120.4	C62-C63-H63	120.1
C46-C45-H45	120.4	C64-C63-H63	120.1
C47-C46-C45	118.9(6)	C63-C64-C72	117.9(4)
C47-C46-H46	120.6	C63-C64-C65	122.3(4)
C45-C46-H46	120.6	C72-C64-C65	119.7(4)
C66-C65-C64	120.6(4)	C82-C83-C84	121.9(4)
C66-C65-H65	119.7	C82-C83-H83	119.1
C64-C65-H65	119.7	C84-C83-H83	119.1
C65-C66-C67	121.4(4)	C83-C84-C79	119.4(4)
C65-C66-H66	119.3	C83-C84-C10	118.6(4)
C67-C66-H66	119.3	C79-C84-C10	122.0(4)
C68-C67-C66	122.4(4)	Cl3-C85-C11	110.9(4)
C68-C67-C71	117.9(4)	Cl3-C85-C12	110.7(4)
C66-C67-C71	119.7(4)	C11-C85-C12	110.5(4)
C69-C68-C67	119.8(4)	Cl3-C85-H85	108.2
C69-C68-H68	120.1	C11-C85-H85	108.2
C67-C68-H68	120.1	C12-C85-H85	108.2
C68-C69-C70	119.3(4)	Cl4-C86-C15	116.3(4)
C68-C69-H69	120.3	Cl4-C86-C16	112.1(4)
C70-C69-H69	120.3	Cl5-C86-C16	108.7(4)

N8-C70-C69	122.3(4)	C14-C86-H86	106.4
N8-C70-C73	116.6(4)	C15-C86-H86	106.4
C69-C70-C73	121.0(4)	C16-C86-H86	106.4
N8-C71-C67	121.8(4)	C4-N1-C1	106.9(4)
N8-C71-C72	118.7(4)	C4-N1-Zn1	125.3(3)
C67-C71-C72	119.5(4)	C1-N1-Zn1	127.8(3)
N7-C72-C64	122.1(4)	C6-N2-C9	106.9(3)
N7-C72-C71	118.9(4)	C6-N2-Zn1	125.3(3)
C64-C72-C71	118.9(4)	C9-N2-Zn1	127.3(3)
C74-C73-C78	118.5(4)	C14-N3-C11	106.1(3)
C74-C73-C70	122.7(4)	C14-N3-Zn1	126.1(3)
C78-C73-C70	118.7(4)	C11-N3-Zn1	126.7(3)
C73-C74-C75	121.1(4)	C16-N4-C19	106.7(3)
C73-C74-H74	119.5	C16-N4-Zn1	125.6(3)
C75-C74-H74	119.5	C19-N4-Zn1	126.9(3)
C74-C75-C76	120.9(4)	C22-N5-C21	117.3(4)
C74-C75-H75	119.5	C22-N5-Zn1	123.9(3)
C76-C75-H75	119.5	C21-N5-Zn1	117.9(3)
C77-C76-C75	118.0(4)	C47-N6-C48	116.2(5)
C77-C76-C79	121.1(4)	C61-N7-C72	118.6(4)
C75-C76-C79	120.6(4)	C70-N8-C71	118.8(4)
C78-C77-C76	120.8(4)	C29-O1-C28	112.7(3)
C78-C77-H77	119.6	C33-O2-C41	114.6(3)
C76-C77-H77	119.6	H1W-O3-H2W	104.2
C77-C78-C73	120.7(4)	N2-Zn1-N3	89.01(13)
C77-C78-H78	119.7	N2-Zn1-N1	89.51(14)
C73-C78-H78	119.7	N3-Zn1-N1	159.96(13)
C84-C79-C80	117.8(4)	N2-Zn1-N4	165.74(13)
C84-C79-C76	124.5(4)	N3-Zn1-N4	87.98(13)
C80-C79-C76	117.6(4)	N1-Zn1-N4	88.56(13)
C81-C80-C79	121.9(5)	N2-Zn1-N5	96.25(13)
C81-C80-H80	119.0	N3-Zn1-N5	94.18(13)
C79-C80-H80	119.0	N1-Zn1-N5	105.85(13)
C82-C81-C80	119.8(4)	N4-Zn1-N5	97.87(13)
C82-C81-H81	120.1		
C80-C81-H81	120.1		
C81-C82-C83	119.2(4)		
C81-C82-H82	120.4		
C83-C82-H82	120.4		

Liste des figures

Figure 1: protoporphyrine IX.	10
Figure 2 : structure du site « actif » de la Cytochrome <i>c</i> Oxydase (PDB 10CR, structure visualisée avec Rasmol)	14
Figure 3 : complexes de la chaîne respiratoire	15
Figure 4 : cycle catalytique de la réduction du dioxygène en eau (YOH: tyrosine 244) ^{22b}	16
Figure 5 : modèle de Collman <i>et al.</i> à chapeau TACN avec une base exogène.....	19
Figure 6 : premier modèle fonctionnel de cytochrome <i>c</i> oxydase à pH physiologique.	20
Figure 7 : schéma d'une l'électrode rotative « disque-anneau » (RDE).....	20
Figure 8 : modèles de Collman <i>et al.</i> à chapeau TACN et TBTen avec base axiale embarquée	22
Figure 9 : modèle de Collman <i>et al.</i> à chapeau TACN avec deux bases axiales différentes ...	23
Figure 10 : modèle de Boitrel <i>et al.</i>	24
Figure 11 : variations distales sur les modèles développés par Boitrel <i>et al.</i>	25
Figure 12 : modèles de Collman et al. avec uniquement des imidazoles comme complexant du cuivre et des bases axiales différentes.....	25
Figure 13 : série de modèles très « biomimétiques »	26
Figure 14 : réaction intermoléculaire entre un adduit et un phénol encombré.....	27
Figure 15 : réaction de formation d'intermédiaires oxy et ferryloxo avec un modèle à fort caractère « biomimétique » de Collman <i>et al.</i>	28
Figure 16 : modèles auto-assemblés.....	29
Figure 17 : modèles covalents de Karlin <i>et al.</i> avec un cuivre tétradentate.	31
Figure 18 : modèle covalent de Karlin et al. avec un cuivre tridentate.....	32
Figure 19 : série de modèle covalent de Naruta <i>et al.</i>	33
Figure 20 : première structure hème-peroxo-cuivre de Naruta <i>et al.</i> (CCDC 205246 représenté avec Ortep et POV-Ray)	34
Figure 21 : modèles biomimétiques covalents de Naruta et al.....	35
Figure 22 : modèle covalent avec une base axiale embarquée de Karlin <i>et al.</i>	36
Figure 23 : réaction d'oxygénation avec un modèle de Naruta <i>et al.</i>	36
Figure 24 : deux modèles de Collman <i>et al.</i> fixés sur une surface d'or ⁶³	39
Figure 25 : structure cristallographique de la Porphén de zinc	40
Figure 26 : motif de nos modèles	43

Figure 27 : A-Electrons impliqués dans l'aromaticité ; B-Porphine base libre ; C-Métalloporphine	45
Figure 28 : deux exemples classiques de métalloporphyrines	45
Figure 29 : conformations possibles des porphyrines	46
Figure 30 : spectres UV-Visible de quelques porphyrines courantes	47
Figure 31 : orbitales frontières des porphyrines.....	48
Figure 32 : cône d'anisotropie magnétique d'une porphyrine.	49
Figure 33 : synthèse de la Porphen.....	50
Figure 34 : structure du complexe bimétallique [Zn(II)-Porphen-Cu(I)(CH ₃ CN) ₂]BF ₄	51
Figure 35 : schéma rétrosynthétique de 44.....	52
Figure 36 : schéma de synthèse du composé 43 à partir de la méso (2,6-diméthoxyphényl)Porphen	52
Figure 37 : synthèse de 45.....	53
Figure 38 : réaction test de 45	55
Figure 39 : synthèse de la méso (2,6-diméthoxyphényl)Porphen 40	55
Figure 40 : synthèse de 42.....	57
Figure 41 : synthèse de 43 par réarrangement de claisen.....	58
Figure 42 : spectre RMN ¹ H des composés 42 et 43 dans du CDCl ₃ à 25 °C (* : résidus de solvants)	59
Figure 43 : catalyseur de Grubbs de seconde génération.....	61
Figure 44 : synthèse du composé 52	61
Figure 45 : spectres RMN ¹ H des composés 43, 51 et 52 dans du CDCl ₃ à 25 °.....	62
Figure 46 : échec de la synthèse de 54	63
Figure 47 : profil isotopique mesuré et calculé des atropoisomères A et B (électrospray à haute résolution).....	64
Figure 48 : ligands de type pyridine.....	65
Figure 49 : synthèse de 57.....	66
Figure 50 : synthèse de 60.....	67
Figure 51 : spectre RMN proton du ligand 57 entre 10,2 et 4 ppm (CDCl ₃ , 400 MHz).....	69
Figure 52 : spectre RMN proton du ligand 57 entre 4 et 2,8 ppm (CDCl ₃ , 400 MHz).....	70
Figure 53 : extrait de la carte RMN COSY (¹ H- ¹ H) de 57 dans du CDCl ₃ à 400 MHz.....	71
Figure 54 : carte RMN ROESY (¹ H- ¹ H) de 57 dans du CDCl ₃ à 400 MHz.....	72
Figure 55 : agrandissements des rectangles bleu et rouge de la carte ROESY de 57	73
Figure 56 : spectre RMN ¹ H de 57 et 60 dans du CDCl ₃ à 400 MHz.....	74

Figure 57 : structure cristallographique de ^{57}Zn	75
Figure 58 : carte RMN COSY (^1H - ^1H) de ^{57}Zn dans CDCl_3 à 400 MHz	77
Figure 59 : spectres RMN ^1H de ^{60}Zn , 60 , 57 et ^{57}Zn dans du CDCl_3 à 400 MHz.....	78
Figure 60 : spectre de masse « electrospray » à haute résolution de $^{57}\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}$	81
Figure 61 : configurations possibles du fer(III) dans les systèmes biologiques.....	82
Figure 62 : effet du champ magnétique sur un système de spin électronique $S = 1/2$	83
Figure 63 : diagramme d'éclatement des niveaux d'énergie pour un ion ferrique ($S = 5/2$) ..	84
Figure 64 : spectre RPE du complexe $^{57}\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}$ dans le dichlorométhane $[c] = 7,7 \cdot 10^{-4}$ à 4,2 K.....	85
Figure 65 : ligands exogènes utilisés pour l'étude de coordination distale.....	86
Figure 66 : dosage du complexe $^{57}\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}$ par une solution d'imidazole dans le dichlorométhane	87
Figure 67 : dosage du complexe $^{57}\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}$ par une solution de 2-méthylimidazole dans le dichlorométhane	87
Figure 68 : dosage du complexe $^{57}\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}$ par une solution de N-méthylimidazole dans le dichlorométhane	89
Figure 69 : évolution du spectre RPE de $^{57}\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}$ dans le dichlorométhane en présence de 1 et 2 équivalents d'imidazole à 4,2 K	90
Figure 70 : évolution du spectre RPE de $^{57}\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}$ dans le dichlorométhane en présence de 1 et 3 équivalents de 2-méthylimidazole à 4,2 K	91
Figure 71 : évolution du spectre RPE de $^{57}\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}$ dans le dichlorométhane en présence de 3 et 15 équivalents de N-méthylimidazole à 4,2 K	92
Figure 72 : états de spin d'une porphyrine de fer(II)	96
Figure 73 : cellule UV-Visible spéciale de type Schlenk.....	97
Figure 74 : étude de la fixation du dioxygène sur le complexe $^{57}\text{Fe}^{\text{II}}$	98
Figure 75 : spectres UV-Visible de $^{57}\text{Fe}^{\text{III}}\text{Br}$ et $^{57}\text{Fe}^{\text{II}}$ dans le toluène	101
Figure 76 : spectre RMN de $^{57}\text{Fe}^{\text{II}}$ dans le CDCl_3 obtenu par réduction de $^{57}\text{Fe}^{\text{III}}\text{Br}$ <i>in situ</i> avec une solution de dithionite de sodium dans du D_2O	102
Figure 77 : spectres UV-Visible de $^{57}\text{Fe}^{\text{II}}$ et $^{57}\text{Fe}^{\text{II}}$ sous atmosphère de O_2 et de CO	103
Figure 78 : spectre RMN de $^{57}\text{Fe}^{\text{II}}$ dans le CDCl_3 sous atmosphère de CO	104
Figure 79 : étude de la fixation du dioxygène sur le complexe $^{57}\text{Fe}^{\text{II}}$ en présence de 2,5 équivalents de N-méthylimidazole.....	105
Figure 80 : spectre UV-Visible de la formation du complexe binucléaire.....	107
Figure 81 : étude la fixation du dioxygène sur le complexe binucléaire $^{57}\text{Fe}^{\text{III}}\text{-Cu}^{\text{I}}\text{Cl}$	108

Figure 82 : voltampérogramme du complexe $[^{57}\text{Fe}^{\text{III}}]\text{Cl}$ dans le dichlorométhane (courbe noire), en présence d'imidazole (courbe rouge) ; référence interne Fc^+/Fc	111
Figure 83 : complexes étudiés en électrocatalyse	112
Figure 84 : courants de disque et d'anneau d'une électrode disque-anneau tournante, modifiée sur le disque par l'adsorption de $[^{57}\text{Fe}^{\text{III}}]\text{Cl}$ (courbe verte), $[^{57}\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{I}}]\text{Cl}$ (courbe rouge) en fonction du potentiel imposé au disque, milieu : H_2O , $\text{pH}=7$, saturé en O_2 sous $p\text{O}_2=1$ bar, $N = 100$ tours. min^{-1}	114
Figure 85 : courant de disque et d'anneau d'une électrode disque-anneau tournante, modifiée sur le disque par l'adsorption de $[^{60}\text{Fe}^{\text{III}}]\text{Cl}$ (courbe rouge), $[^{60}\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{I}}]\text{Cl}$ (courbe verte) en fonction du potentiel imposé au disque, milieu : H_2O , $\text{pH}=7$, saturé en O_2 sous $p\text{O}_2=1$ bar, $N=100$ tours. min^{-1}	115
Figure 86 : deux modèles de cytochrome c oxydase développés au laboratoire.....	116
Figure 87 : modèles potentiels de la myoglobine.....	121
Figure 88 : ligand pendant pour la position proximale	122

Liste des tableaux

Tableau 1 : tableaux comparatif des principaux déplacements chimiques de 42 et 43.....	60
Tableau 2 : principales valeurs des distances (\AA) et des angles (degré) du complexe ^{57}Zn ...	76
Tableau 3 : variation des déplacements chimiques due à la coordination de ^{57}Zn et ^{60}Zn (CDCl_3 , 400MHz).....	79
Tableau 4 : récapitulatif du nombre d'électrons échangés et potentiel de demi-vague de modèles développés au laboratoire.....	116

Résumé :

Le travail décrit dans ce manuscrit est consacré à la synthèse de modèles génériques d'hémoprotéines multifonctionnels obtenus à partir d'une porphyrine à anse phénanthroline. Deux nouveaux modèles de cytochrome *c* oxydase résultant des ces modèles génériques ont été préparés par introduction de deux bras pyridiniques en positions distale et proximale. L'étude à l'état solide d'un des complexes de zinc a révélé un environnement pentacoordiné proximal autour de l'atome de zinc. Cette géométrie pentacoordinée a également été observée, à l'aide de la RPE, avec les complexes correspondants de fer(III). Des études parallèles en UV-visible et RMN du proton ont permis de montrer que les complexes de fer(II), obtenus par réduction chimique, présentent une géométrie hexacoordinée autour de l'ion ferreux. Il a pu être montré que la fixation d'oxygène moléculaire nécessite une occupation préalable du bras pyridine en position distale. L'étude de la fixation de l'oxygène sur nos édifices a été effectuée en réduisant soit le complexe de fer(III) hexacoordiné avec le *N*-méthylimidazole soit le complexe binucléaire [fer(III) pentacoordiné - cuivre(I)]. Finalement, il a été démontré que les performances électrocatalytiques en réduction à 4 électrons de l'oxygène moléculaire augmente avec l'affinité des complexes ferreux pour l'oxygène gazeux.

Mots clés : modèles de cytochrome *c* oxydase, porphyrine à anse phénanthroline, fixation d'oxygène, électrochimie.

Abstract:

The work described in this manuscript is devoted to the synthesis of multifunctional hemoproteins generic models obtained from phenanthroline-strapped porphyrin. Two models of cytochrome *c* oxidase resulting from these generic models were prepared by attaching two pyridines arms at the distal and proximal positions. The solid state study of one zinc complex showed a proximal pentacoordinated environment around the zinc atom. This pentacoordinated geometry was also observed by EPR in the corresponding iron(III) complex. UV-visible and proton NMR studies of the iron(II) complex, obtained by chemical reduction, revealed a hexacoordinated geometry around the ferrous ion. It was shown that oxygen binding required prior occupation of a distal pyridine arm. The oxygen binding study on our compounds was carried out by reducing the hexacoordinated iron(III) complex with *N*-methylimidazole or the binuclear [iron(III) pentacoordinated-copper(I)] complex. Finally, it was shown that the electrocatalytic performance in 4-electron reduction of molecular oxygen increased with the affinity of the ferrous complex for oxygen gas.

Keywords: cytochrome *c* oxidase models, phenanthroline-strapped porphyrin, dioxygen binding, electrochemistry.