



HAL
open science

Synthèse de Nouvelles Nitrones du Type Pyrroline-N-Oxyde - Présentation orale

Gilles Olive

► **To cite this version:**

Gilles Olive. Synthèse de Nouvelles Nitrones du Type Pyrroline-N-Oxyde - Présentation orale. Autre [q-bio.OT]. Université de droit, d'économie et des sciences - Aix-Marseille III, 1998. Français. NNT : . tel-00003872

HAL Id: tel-00003872

<https://theses.hal.science/tel-00003872>

Submitted on 4 Mar 2004

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Laboratoire 'Structure et Réactivité
des Espèces Paramagnétiques'
UMR 6517 'Chimie, Biologie et Radicaux Libres'

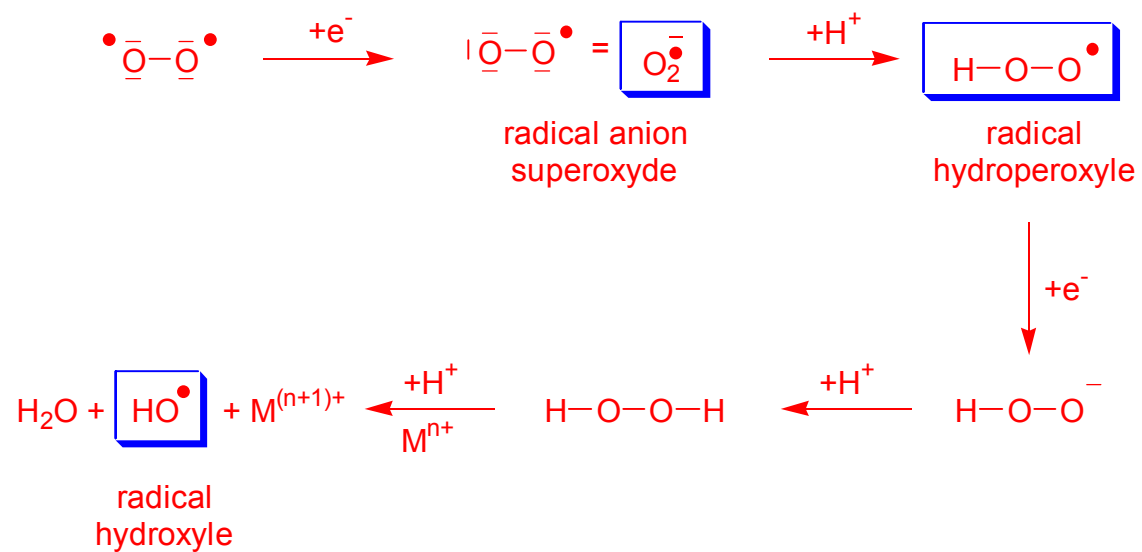
Synthèse de Nouvelles Nitrones du Type
Pyrroline-*N*-Oxyde et leur Utilisation en
Spin-Trapping.

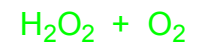
Synthesis of New Pyrrolin-*N*-Oxide Nitrones
and their use in Spin-Trapping Experiment

par

Gilles OLIVE

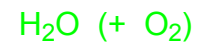
Les radicaux libres centrés sur l'oxygène





SOD

Catalases
Peroxydases

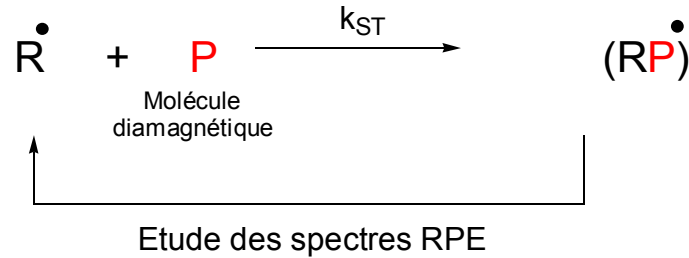


Antioxydants

Radicaux stabilisés

Et les défenses de l'organisme

Le spin-trapping



Pour être efficace le piège **P** doit présenter les caractéristiques suivantes :

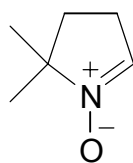
- P** doit être chimiquement stable dans les conditions opératoires.
- La vitesse de réaction de R^\bullet sur **P** doit être la plus élevée possible.
- L'adduit PR^\bullet doit être suffisamment persistant afin d'obtenir son spectre RPE.
- La contribution de **P** aux spectres RPE doit être la plus petite possible afin d'avoir le maximum d'informations sur le radical R^\bullet .
- P** doit réagir le **plus spécifiquement** possible avec les radicaux libres.

Par ailleurs, dans le cas de piégeages effectués en milieu biologique, il faut également prendre en compte les points suivants :

- P** ne doit pas être cytotoxique afin de pouvoir être utilisé à diverses concentrations.
- P** doit être soluble dans l'eau.
- P** doit être stable et non dégradé dans les milieux biologiques : il ne doit pas former par décomposition des espèces paramagnétiques pouvant compliquer l'interprétation des spectres RPE de l'adduit PR^\bullet .

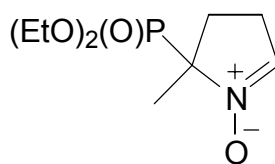
⇒ L'ensemble de ces paramètres peut s'appliquer aux dérivés suivants : les dérivés nitroso et les nitrones.

Les nitrones actuellement utilisées



DMPO 1

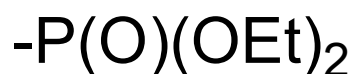
- L'adduit OOH formé est peu persistant ($t_{1/2} \approx 50$ s à pH 7,4 à 25°C, $t_{1/2} = 60$ s à pH 7,0).
- L'adduit DMPO-OOH se décompose rapidement en adduit DMPO-OH.
- La réaction de la DMPO avec des nucléophiles, suivie de l'oxydation à l'air de l'hydroxylamine formée peut conduire à des nitroxydes. En particulier l'attaque de l'eau catalysée par les ions ferriques conduit à l'adduit DMPO-OH.
- La vitesse de piégeage du superoxyde est faible ($10 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ à pH 7,8).
- Sa faible liposolubilité limite les mesures au milieu extra-cellulaire.



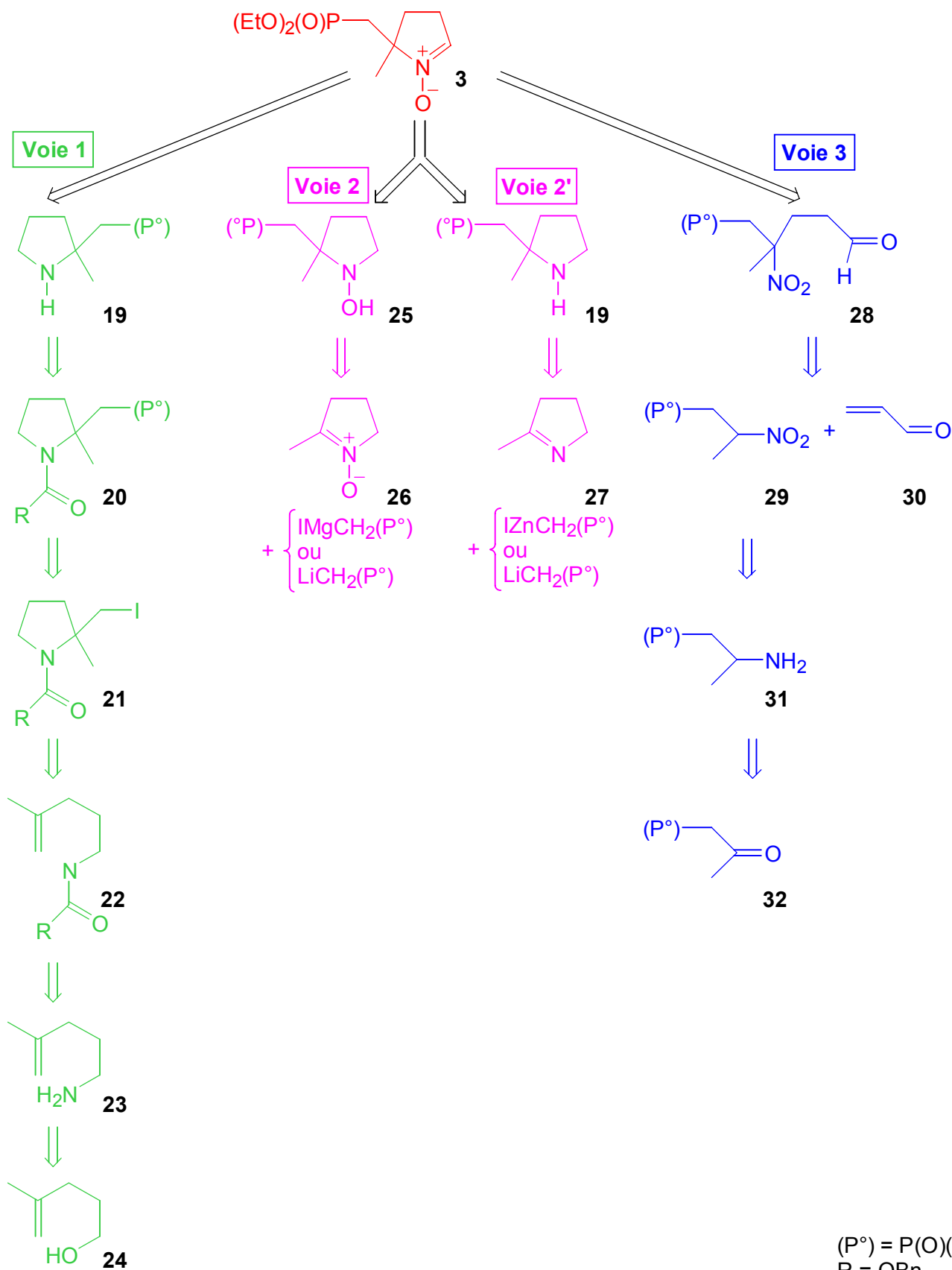
DEPMPO 2

- Stabilité accrue de l'adduit superoxyde (jusqu'à 15 fois plus stable à pH 7,0).
- Absence de transformation de l'adduit superoxyde en adduit hydroxyle.
- Absence d'addition nucléophile de l'eau dans des conditions physiologiques.
- La vitesse de piégeage du superoxyde reste faible ($k_{\text{DEPMPO}} = 1,5 k_{\text{DMPO}}$).
- Légère augmentation de la lipophilie.

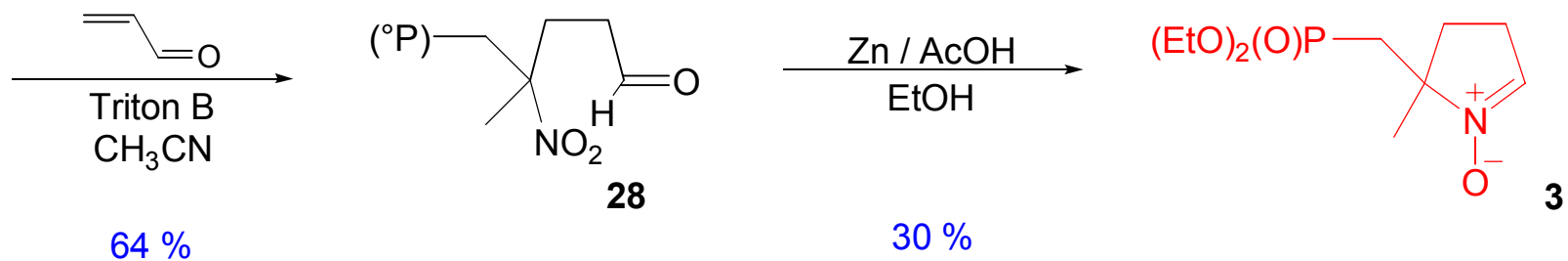
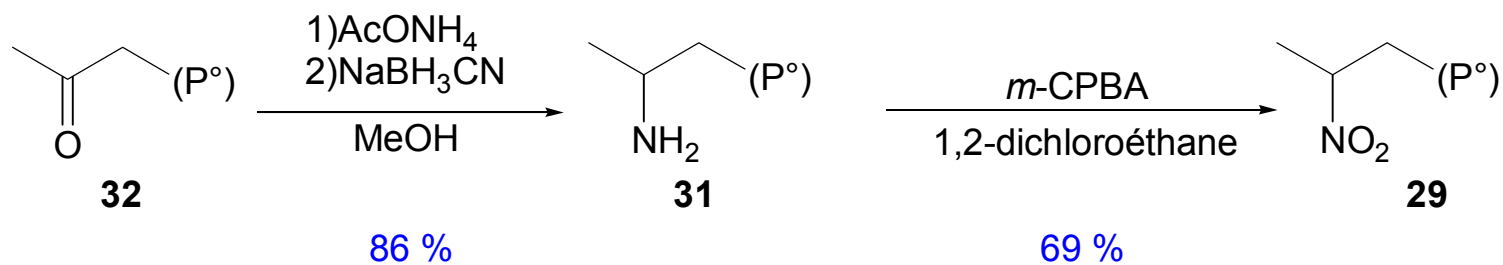
OBJECTIF de la THESE



Rétrosynthèse du 2-(diéthoxyphosphorylméthyl)- 2-méthyl-3,4-dihydro-2H-pyrrole-1-oxyle (ESP) **3**

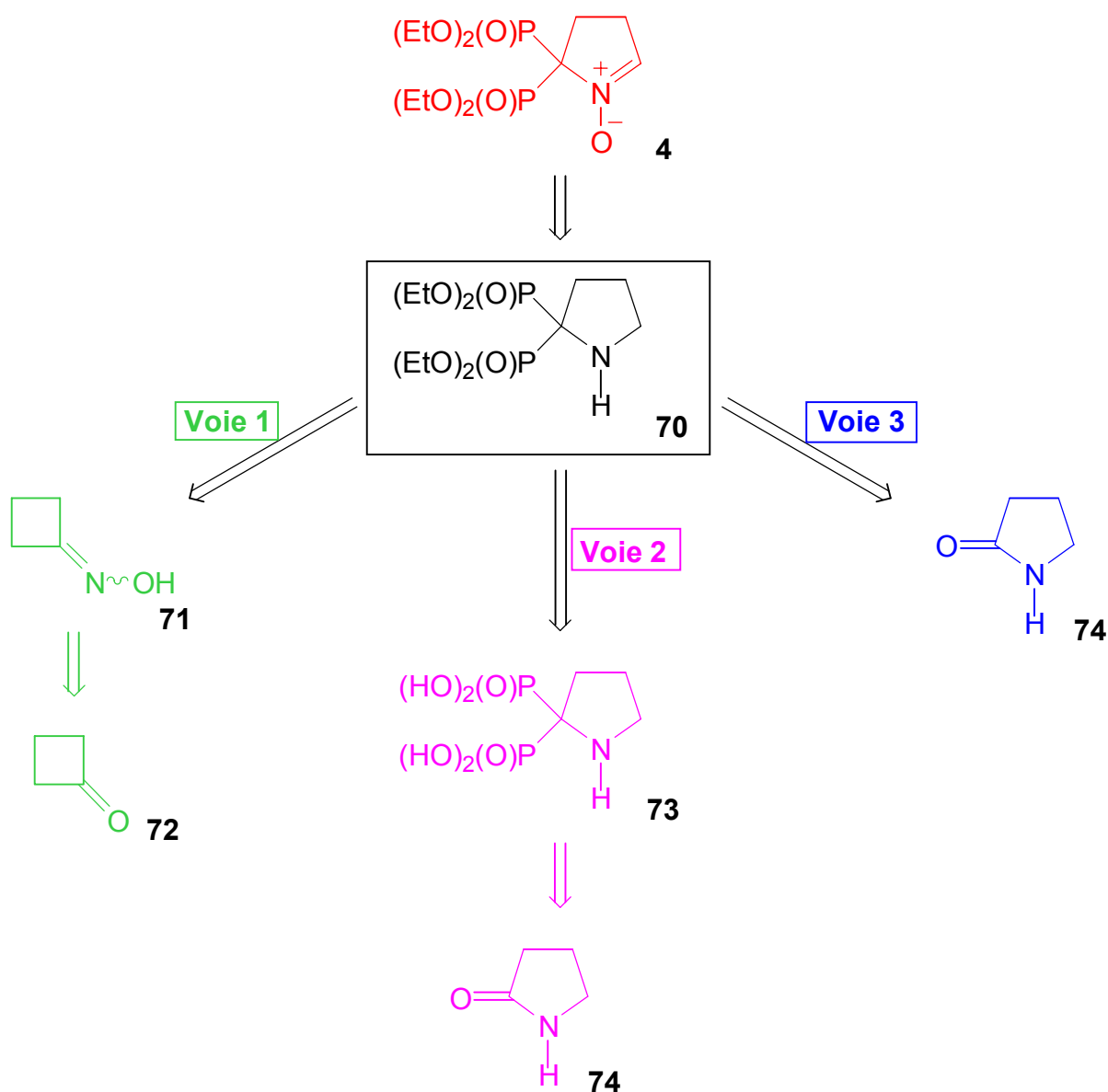


Synthèse du 2-(diéthoxyphosphorylméthyl)-2-méthyl-
3,4-dihydro-2H-pyrrole-1-oxyle (ESP) **3**

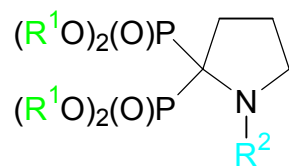
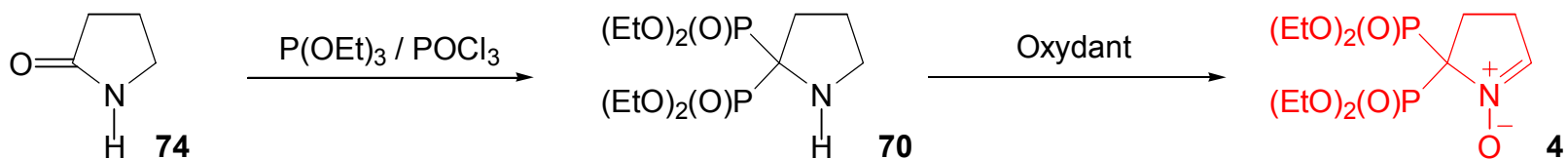


(P°) = P(O)(OEt)₂

Rétrosynthèse du 2,2-bisdiéthoxyphosphoryl-3,4-dihydro-2H-pyrrole-1-oxyle (DPBO) **4**



Synthèse du 2,2-bisdiéthoxyphosphoryl-
3,4-dihydro-2*H*-pyrrole-1-oxyde (DPBO) **4**

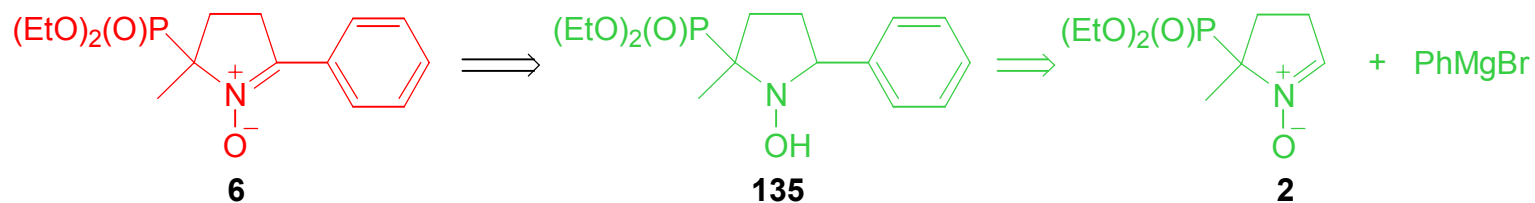


	R ¹	R ²	rendement (%)
70	Et	H	47
90	iPr	H	45
91	nBu	H	47
93	Et	Me	17

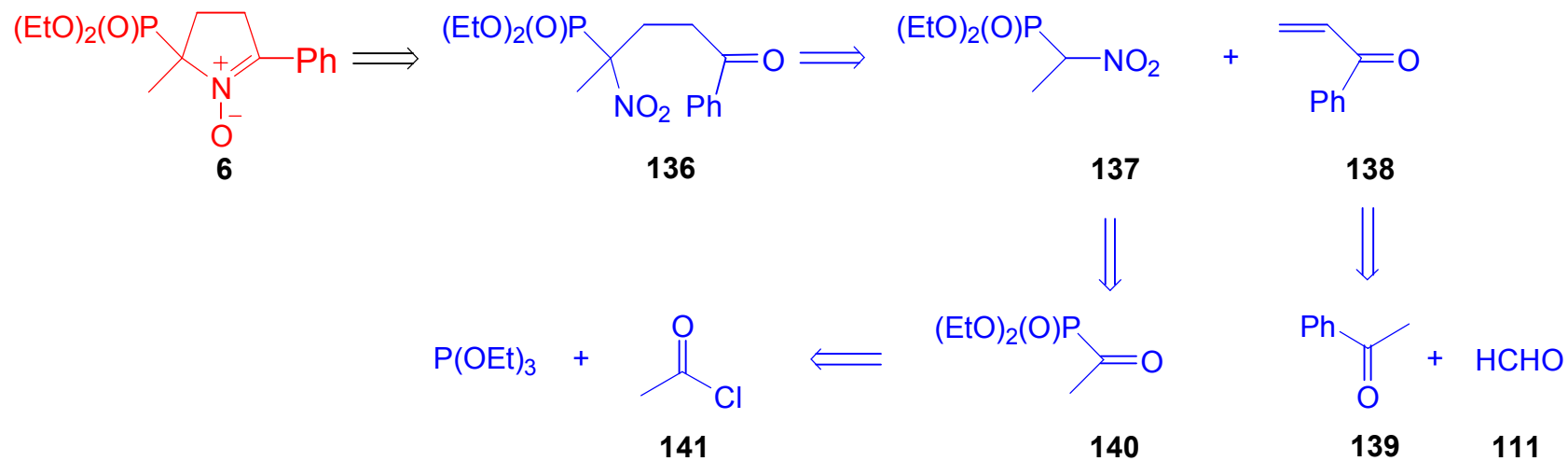
Oxydant	rendement 4 (%)
<i>m</i> -CPBA	0 (suroxydation)
H ₂ O ₂ / Catalyseur	0
DMD	~20
"Brik"	11

Rétrosynthèse du 2-diéthoxyphosphoryl-2-méthyl-5-phényl-3,4-dihydro-2H-pyrrole-1-oxyde (DEPMPO-Ph) **6**

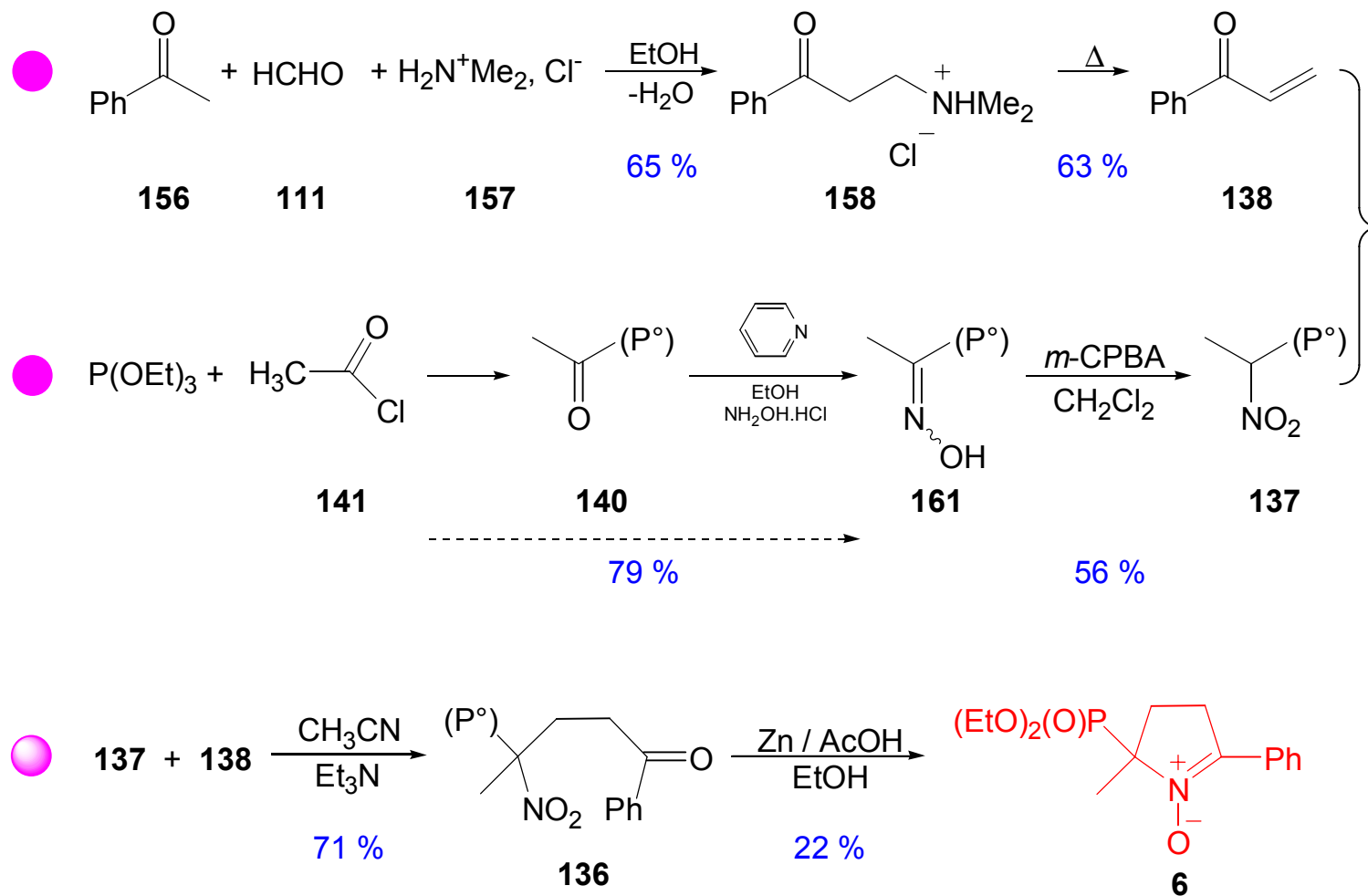
Voie 1



Voie2

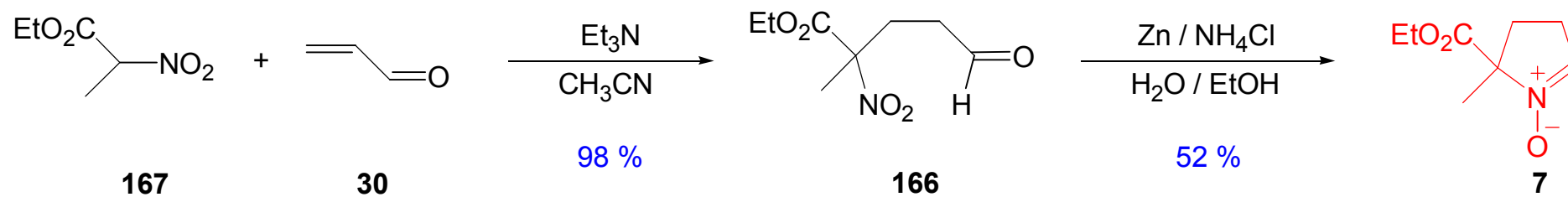


Synthèse du 2-diéthoxyphosphoryl-2-méthyl-5-phényl-3,4-dihydro-2H-pyrrole-1-oxyle (DEPMPO-Ph) **6**



(P°) = P(O)(OEt)₂

Synthèse du 2-éthoxycarbonyl-2-méthyl-3,4-dihydro-2H-pyrrole-1-oxyde (EMPO) 7



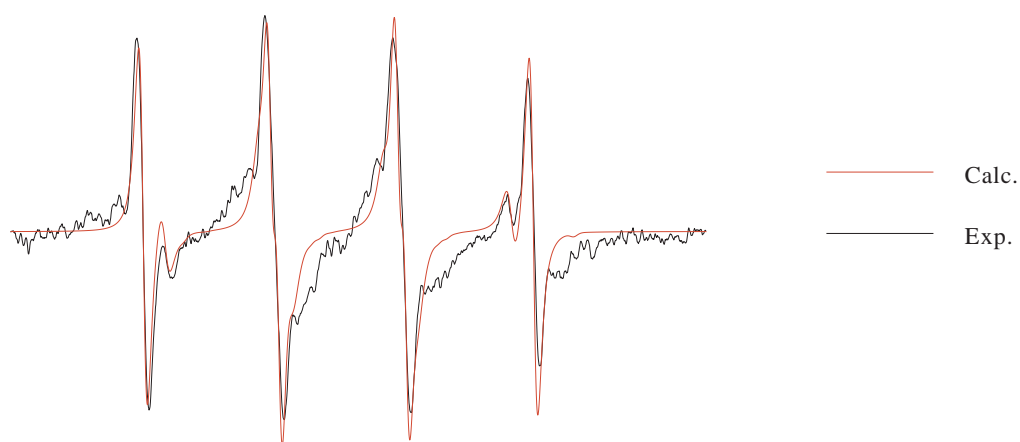
CONCLUSION SUR LA SYNTHÈSE

- □ Nous avons utilisé différentes voies de synthèse : oxydation
réduction.
- □ La voie par la réduction est plus propre et donne de meilleurs
rendement.
- □ Nous avons utilisé des réactions simples mais nous avons parfois
tenté des voies "audacieuses" ($\text{ICH}_2\text{P(O)(OEt)}_2$).
- □ Nous avons échoué sur des réactions "simples".
- □ Nous avons étudié la réactivité du phosphore, et "la fragilité" des
nitrones.
- □ Nous avons mis au point une réaction (gem diphosphorylation).
- □ Au cours de la synthèse de **4**, les intermédiaires ont été étudiés en
RPE.
- □ Nous avons synthétisé 4 nitrones sur lesquelles nous avons pu
faire les expériences de spin-trapping.

- Milieu aqueux (HO^\bullet (Fenton, H_2O_2 1 %), $\text{O}_2^{\bullet-}$ (HX / XO, H_2O_2 30 %)).
- Peroxyde de *ditertiobutyle* dans le dichlorométhane.
- Peroxyde de *ditertiobutyle* pur.
- Hydroperoxyde de *tertiobutyle* dans le toluène.
- Iodure de méthyle dans le benzène.

Spin-Trapping avec ESB

ESP-OH

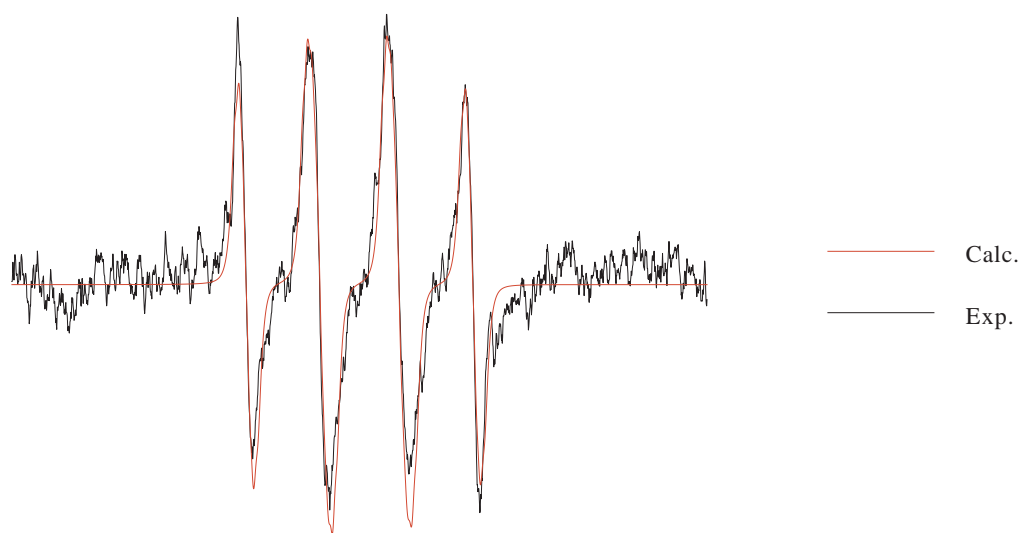


(Tampon phosphate pH 5,8)

Source	pH	%	a_N / G	a_H / G
Fenton	5,8	78	14,6	15,6
		22	14,4	11,1
1) Ribo/ hv/ DTPA	6,0	75	14,6	15,6
2) GSH / GPX		25	14,3	11,1

Spin-Trapping avec ESR

ESP-OOH

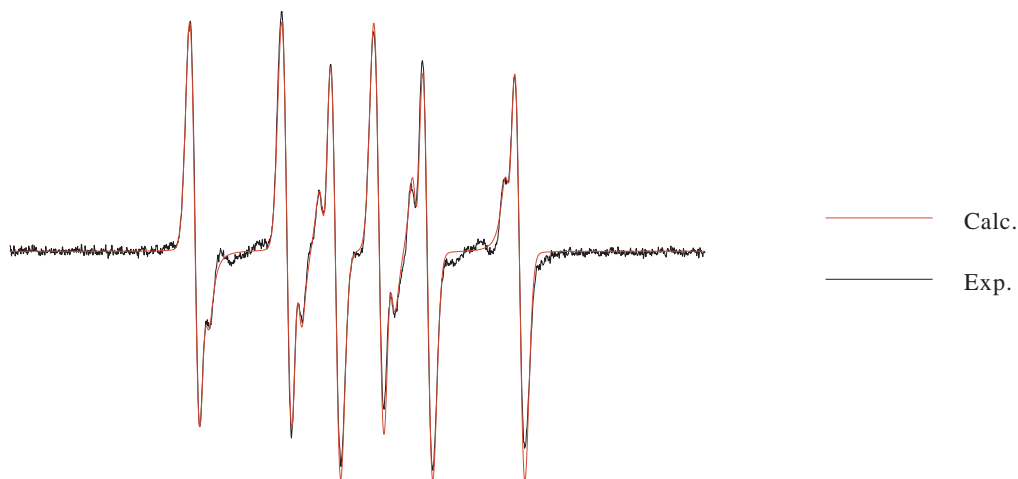


(Tampon phosphate pH 6,0)

Source	Solvent	a_N /G	$a_{H\beta}$ /G	$a_{P\gamma}$ /G	$a_{H\gamma}$ /G	$a_{H\delta}$ /G
HX / XO	TP pH 6,0	13,7	11,8	1,3	0,9	0,8;0,6
Ribo / hv / DTPA	TP pH 6,0	13,7	11,9	1,3	0,8	0,8;0,6
Lumi / hv / DTPA	Pyridine	12,9	10,5	1,7	1,4	1,1;0,9
Add Nu H ₂ O ₂	Pyridine	12,9	10,6	1,7	1,4	1,2;0,7

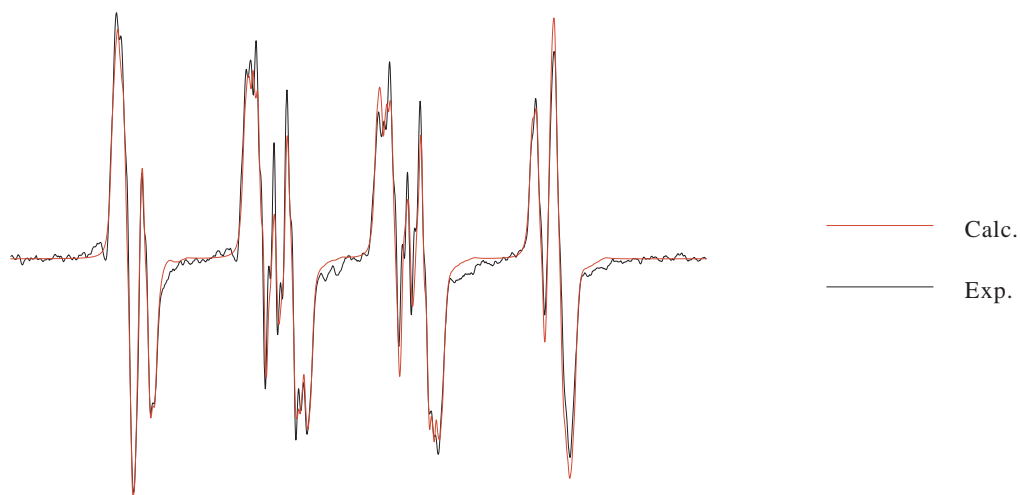
Spin-Trapping avec ESR

ESP-CH₃ et ESP-CO₂⁻



CH₃•

(Tampon phosphate pH 5,8)



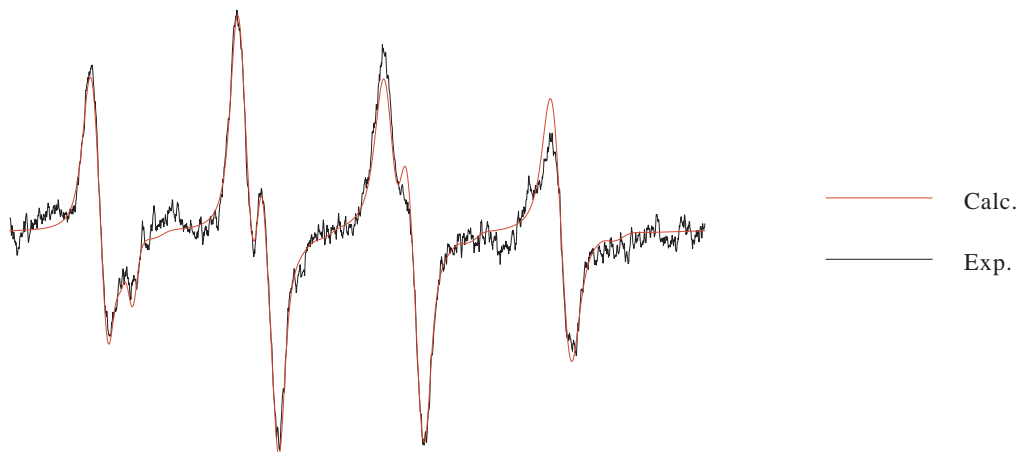
CO₂⁻•

(Tampon phosphate pH 5,8)

Radical	Source	pH	%	a _N /G	a _{Hβ} /G	a _{pγ} /G	a _{Hγ} /G	a _{Hγ} /G
CH ₃ •	Fenton + DMSO	5,8	69	15,9	24,3			
			31	16,1	20,1			
CO ₂ ⁻ •	Fenton +	5,8	60	15,4	16,7	2,1	0,7	0,5
	Formiate		40	15,2	19,9	1,2	0,6	0,3

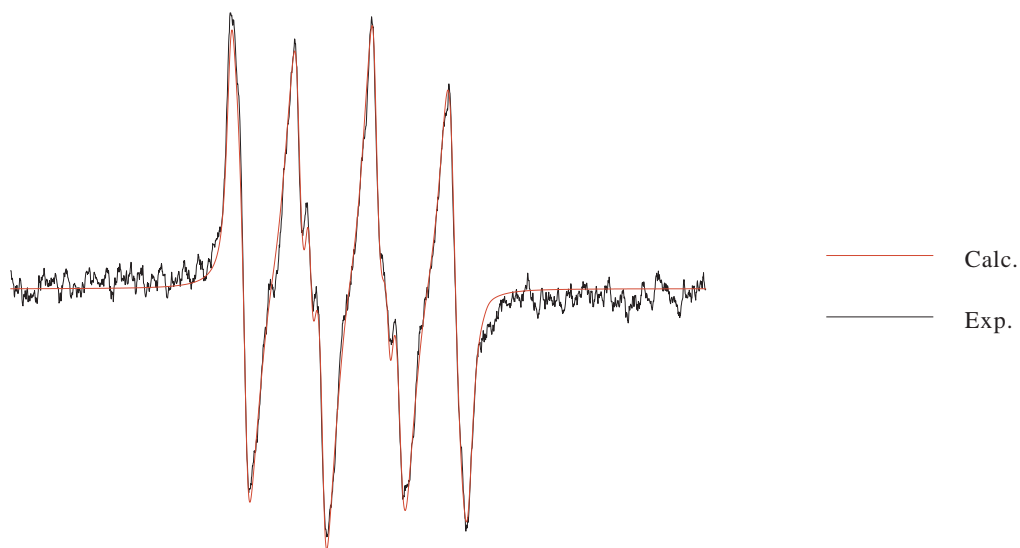
Spin-Trapping avec ESR

ESP-SG et ESP-OOtBu



GS•

(Tampon phosphate pH 7,4)



tBuOO•

(Eau 30%)

Radical	Source	pH	%	a_N / G	$a_{H\beta} / G$	$a_{P\gamma} / G$	$a_{H\gamma} / G$	$a_{H\delta} / G$
GS•	GSSG / hv	7,4	60	16,1	14,1	1,1	0,9	0,5
			40	14,4	15,0	2,4	0,9	0,6
tBuOO•	tBuOOH / hv		62	13,3	11,2	1,4	0,8	0,6
			38	13,3	8,0	1,4	0,9	0,7

Spin-Trapping avec ESP **3**

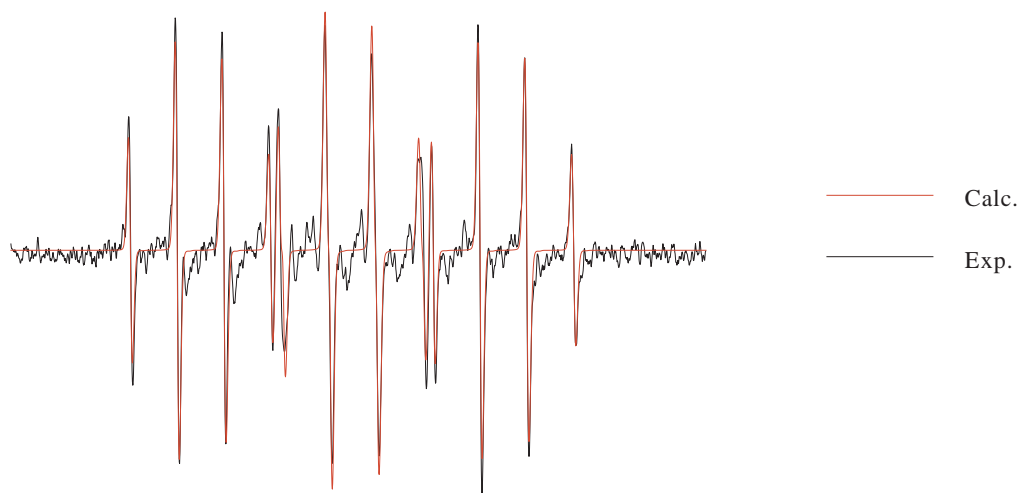
Cinétique ESP-OOH

Nitronne	TP pH 5,8	TP pH 7,0	Pyridine
DMPO 1	89	50	510
DEPMPO 2	1824	780	2772
ESP 3	304	138	815

Temps de demi-vie (en secondes) des nitrones **1,2** et **3**

Spin-Trapping avec DPBO4

DPBO-OH

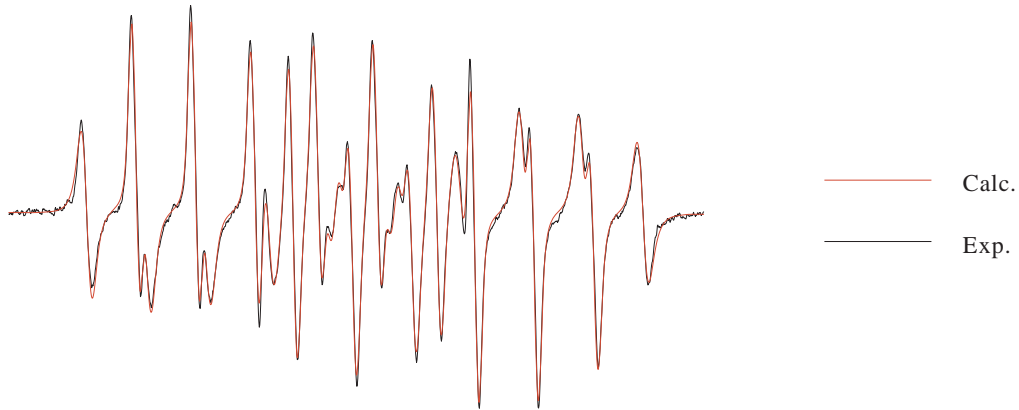


(Tampon phosphate pH 5,6)

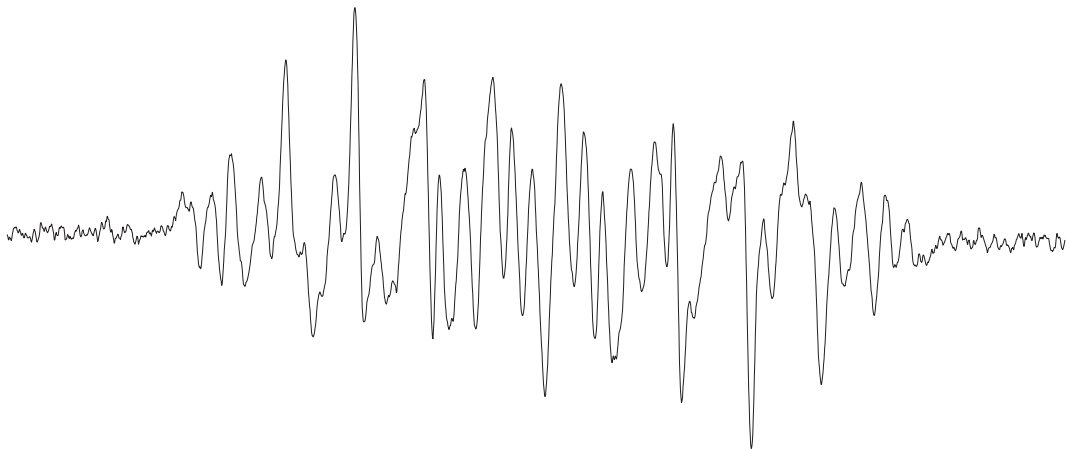
Source	pH	a_N / G	a_H / G	a_{P1} / G	a_{P2} / G
Fenton	5,8	13,5	13,2	44,3	43,1
H ₂ O ₂ 1 % / hv		13,4	13,0	43,9	42,8
1)HX / XO 2) GSH / GPX	6,0	13,5	13,5	43,0	44,1
1) Ribo/hv/DTPA 2) GSH / GPX	6,0	Non simulé			
Add Nu H ₂ O	6,0	13,5	13,4	43,0	44,1

Spin-Trapping avec DPBO4

DPBO-OOH



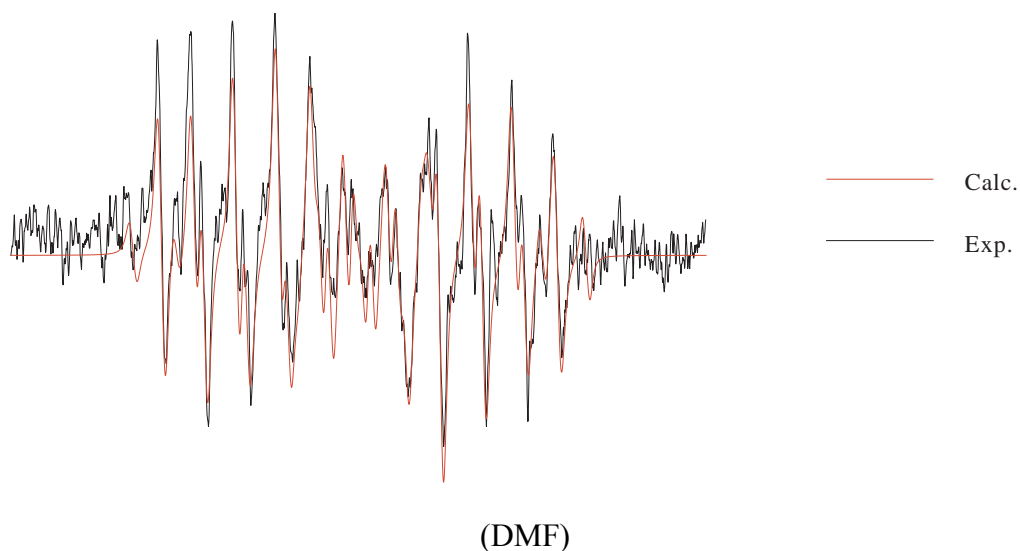
(Photolyse de H₂O₂ 30 %)



(Riboflavine / lumière / DTPA, pH 5,6)

Spin-Trapping avec DPBO4

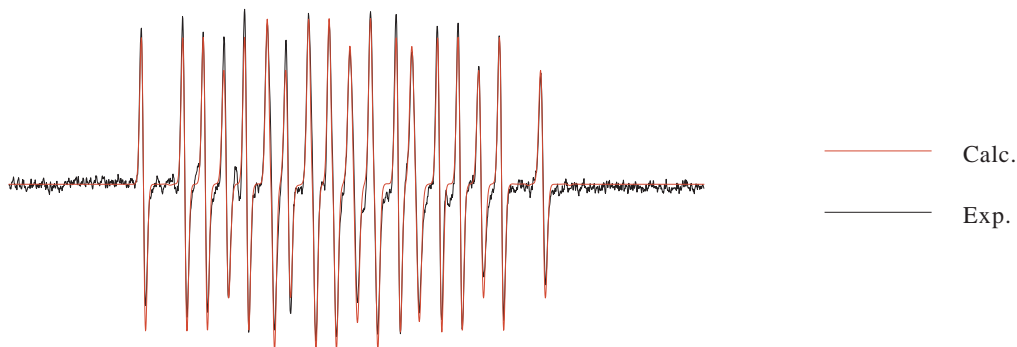
DPBO-OOH



Source	Solvant	%	a_N /G	a_H /G	a_{P1} /G	a_{P2} /G	Remarque
HX / XO	TP pH 6,0	82	12,8	10,0	41,9	39,0	DPBO-OOH
			12,7	12,0	48,4	38,7	$\tau = 0,22 \cdot 10^{-7}$
		18	13,7	13,0	44,1	42,9	DPBO-OH
Ribo / hv / DTPA			Spectre non simulé				
H ₂ O ₂ 30 % / hv	H ₂ O ₂ 30 %		12,8	10,0	41,7	39,4	
			12,9	11,6	48,2	39,0	$\tau = 0,25 \cdot 10^{-7}$
Ribo / DTPA	DMF	81	12,2	9,5	43,7	36,3	DPBO-OOH
		19	14,7	12,4	46,4	42,1	DPBO-OH

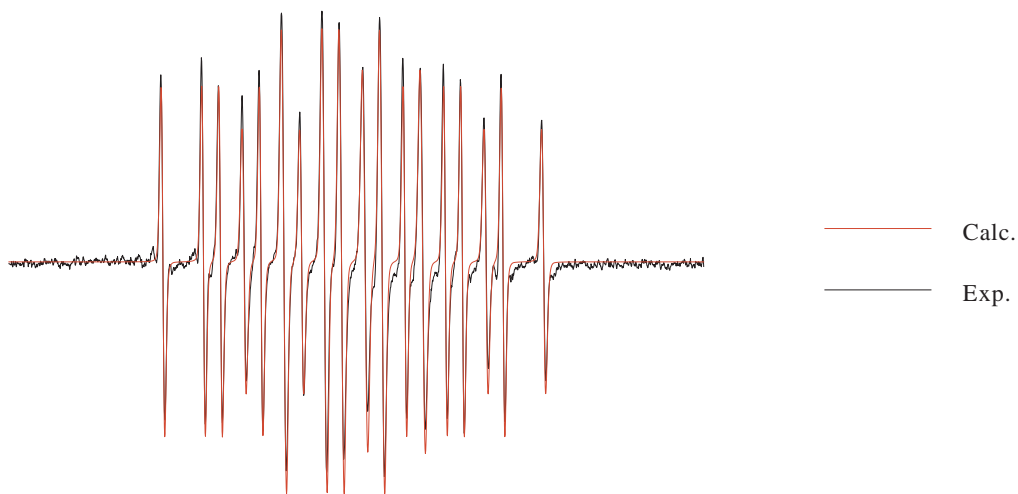
Spin-Trapping avec DPBO4

DPBO-CH₃ et DPBO-CO₂⁻



CH₃•

(Tampon phosphate pH 5,8)



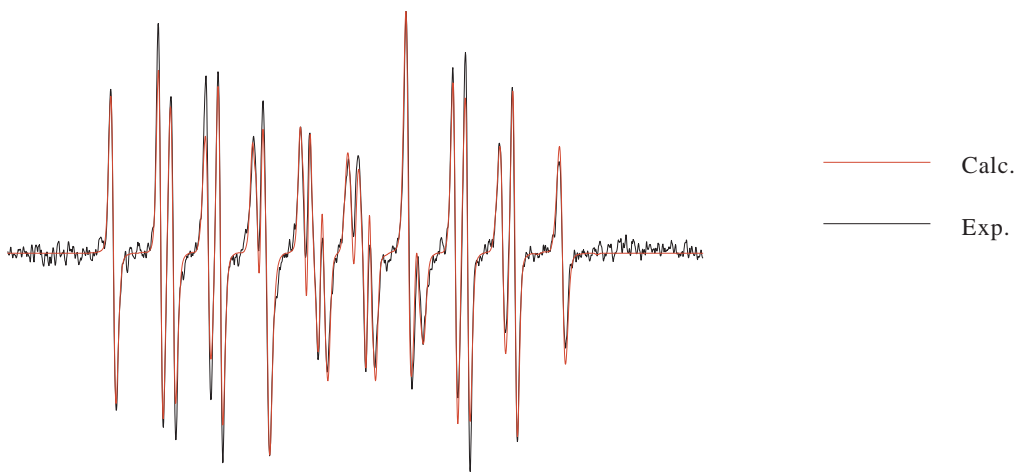
CO₂⁻•

(Tampon phosphate pH 5,8)

Radical	Source	pH	a _N /G	a _H /G	a _{p1} /G	a _{p2} /G
CH ₃ •	Fenton+DMSO	5,8	14,6	21,8	45,5	44,2
CO ₂ ⁻ •	Fenton+HCO ₂ Na	5,8	14,3	20,3	43,0	42,1

Spin-Trapping avec DPBO4

DPBO-SG

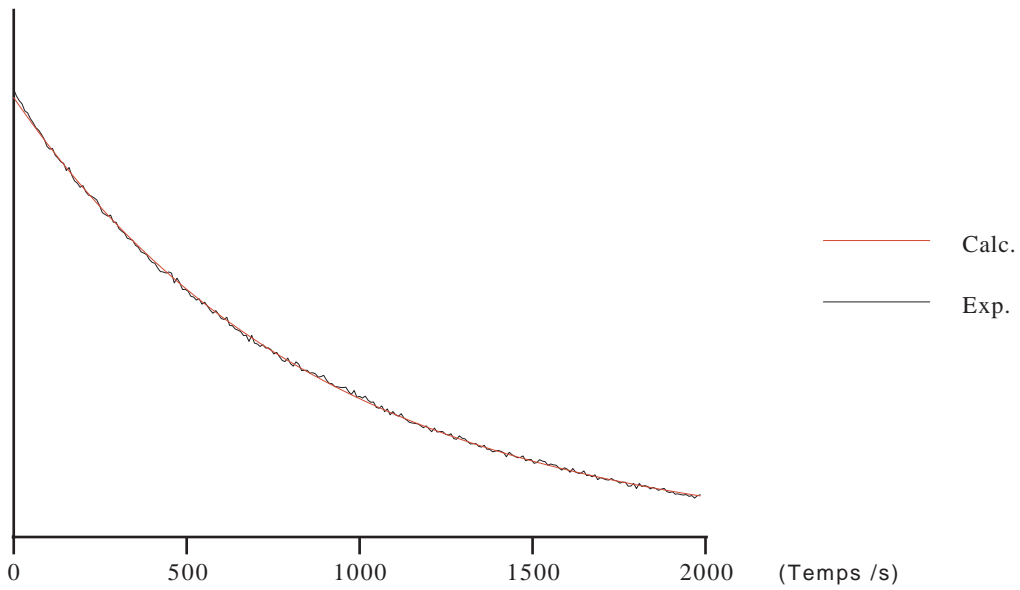


(Tampon phosphate pH 5,8)

Source	pH	%	a_N /G	a_H /G	a_{P1} /G	a_{P2} /G
GSSG / hv	5,8	79	13,6	17,2	43,1	41,3
		21	13,7	17,1	44,6	40,7

Spin-Trapping avec DPBO4

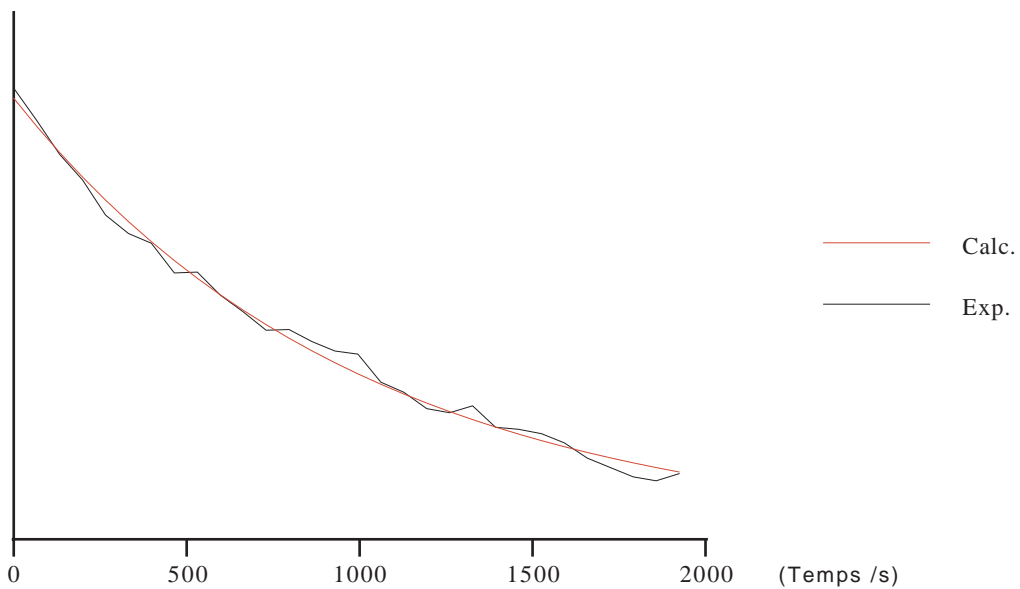
Cinétiques



Courbe de décroissance de DPBO-OOH dans la pyridine

$$\frac{t_{1/2} \text{DEPMPO}}{t_{1/2} \text{DPBO}} = 4,8$$

$$\frac{t_{1/2} \text{DPBO}}{t_{1/2} \text{DMPO}} = 1,1$$

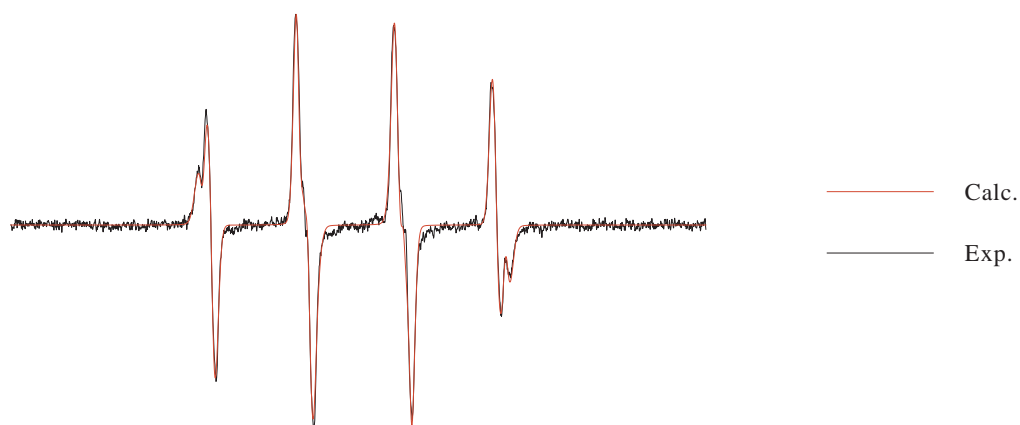


Courbe de décroissance de l'adduit DPBO-SG (Tampon phosphate pH 7,4)

⇒ temps de demi-vie de 679 s

Spin-Trapping avec EMPO7

EMPO-OH

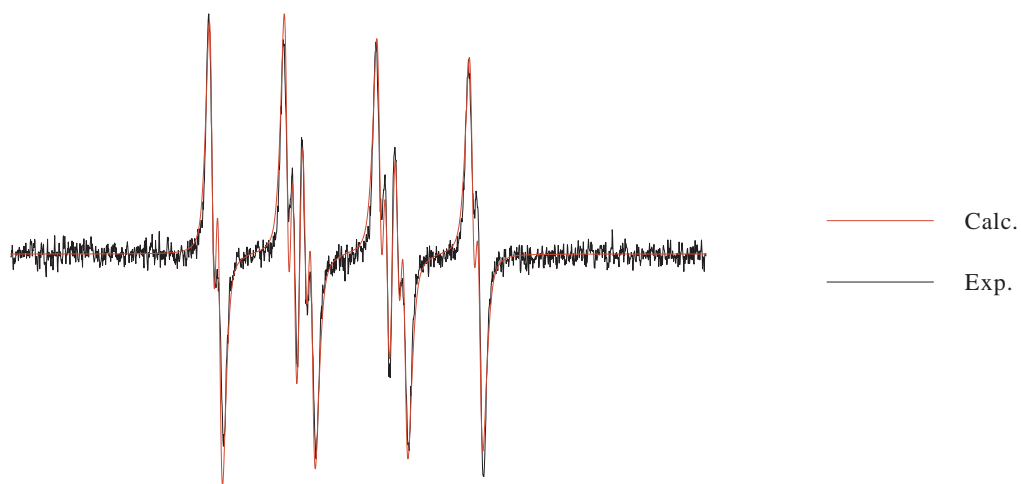


(Tampon phosphate pH 5,6)

Source	pH	%	a_N /G	$a_{H\beta}$ /G	$a_{H\gamma}$ /G
Fenton	5,6	45	13,9	15,3	0,9
		55	14,0	12,8	
	7,0	53	14,0	15,1	0,9
		47	14,0	12,7	
H ₂ O ₂ 1 % / hv		57	14,2	14,2	1,2
		43	14,1	12,7	
1) HX / XO	5,6		14,1	12,8	
2) GSH / GPX	7,0		14,1	12,8	

Spin-Trapping avec EMPO7

EMPO-OOH

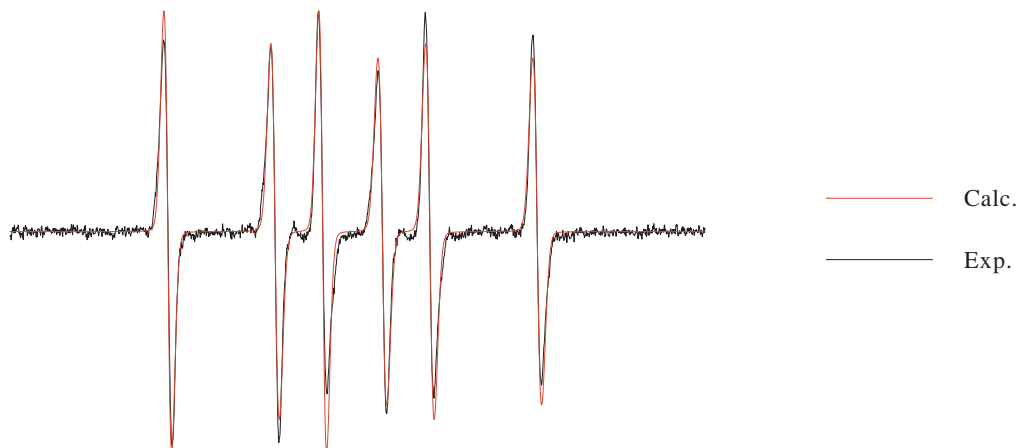


(Tampon phosphate pH 5,6)

Source	pH	a_N /G	$a_{H\beta}$ /G	$a_{H\gamma}$ /G
HX / XO	5,6	13,3	10,8	1,1
	7,0	13,3	10,8	1,1
H ₂ O ₂ 30 % / hv		13,4	11,2	1,0

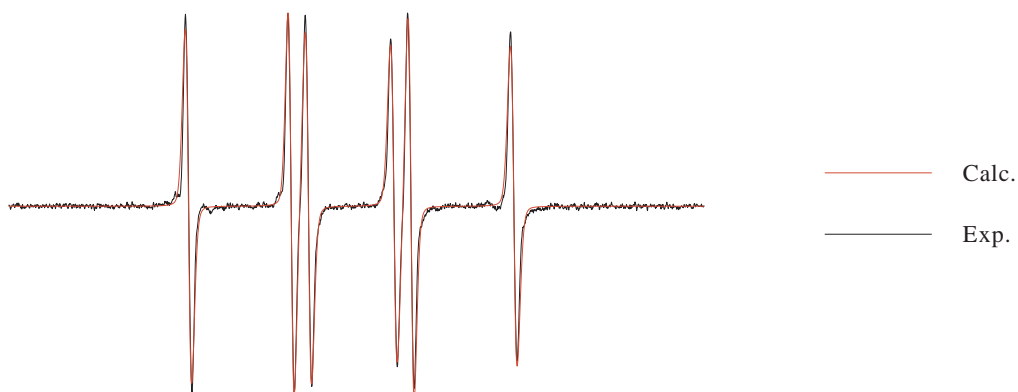
Spin-Trapping avec EMPO7

EMPO-CH₃ et EMPO-CO₂⁻



CH₃•

(Tampon phosphate pH 5,6)



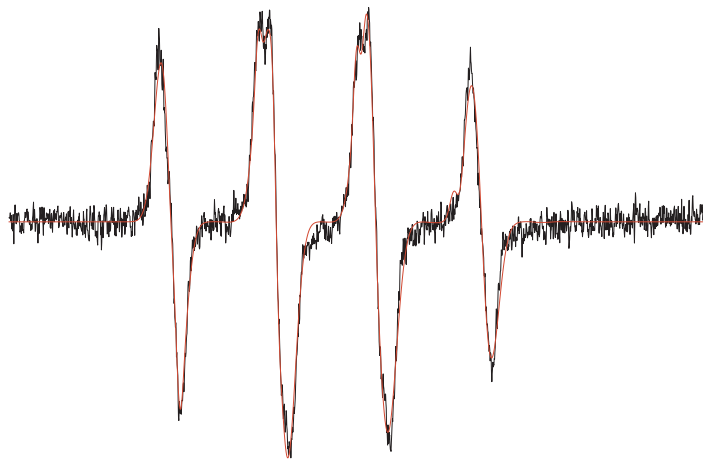
CO₂⁻•

(Tampon phosphate pH 7,0)

Radical	Source	pH	a _N /G	a _{Hβ} /G
CH ₃ •	Fenton+DMSO	5,6	15,4	22,3
		7,0	15,4	22,3
CO ₂ ⁻ •	Fenton+formiate de sodium	5,6	14,8	17,2
		7,0	14,8	17,2

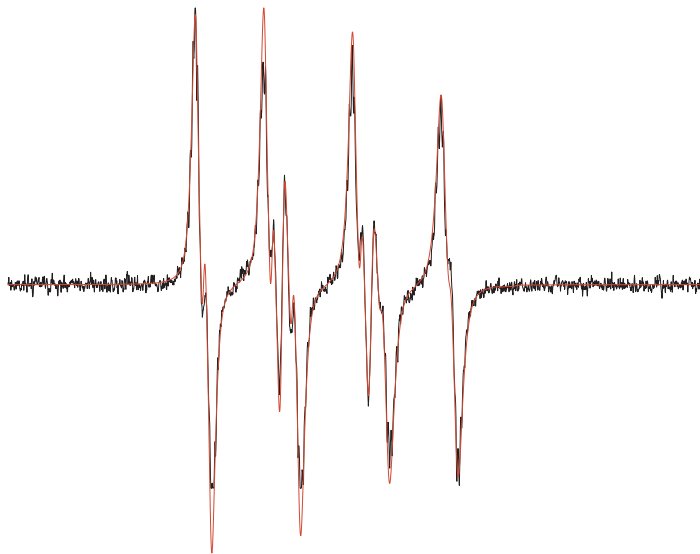
Spin-Trapping avec EMPO7

Autres adduits



GS[•]

(Tampon phosphate pH 7,0)

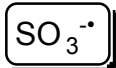
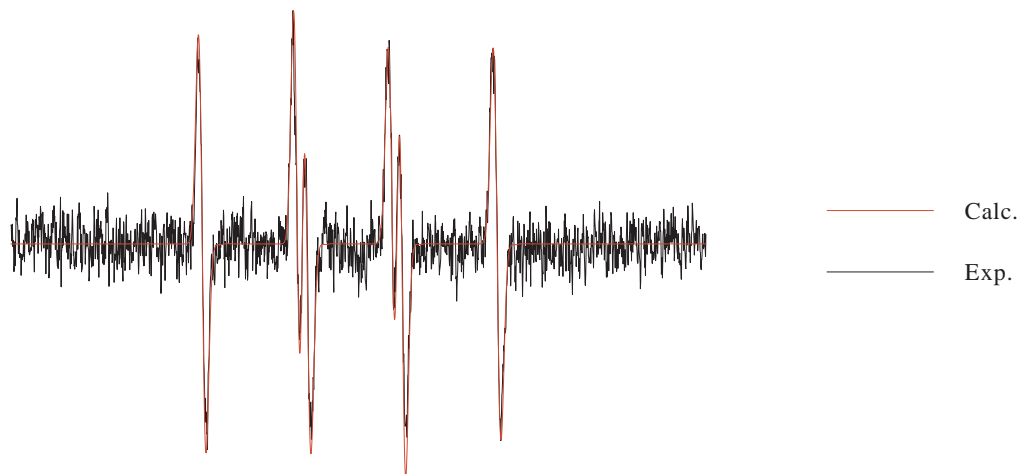


tBuOO[•]

(Hydroperoxyde de *tertiobutyle* 70 % dans l'eau)

Spin-Trapping avec EMPO7

Autres adduits

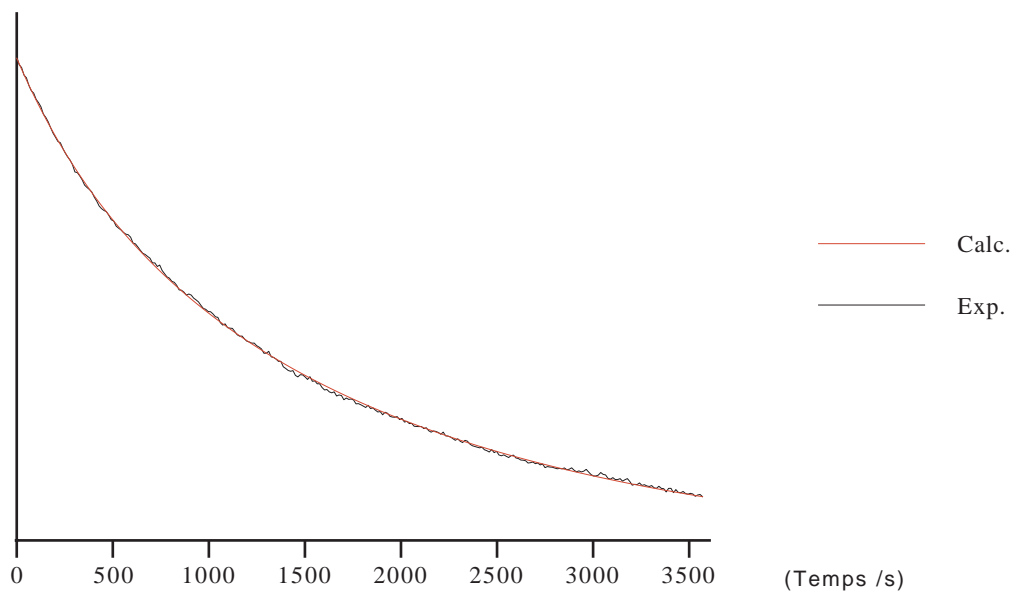


(Tampon phosphate pH 7,0)

Radical	Source	pH	%	a_N / G	$a_{H\beta} / G$	$a_{H\gamma} / G$	$a_{H\delta} / G$
GS•	GSSG / hv	5,6	4	14,1	11,8		
			96	14,5	15,5		
		7,0	2	14,1	12,0		
			98	14,4	15,9		
tBuOO•	tBuOOH / hv			12,8	9,9	1,3	0,5
SO ₃ •-	Fenton+HNaSO ₃	5,6		Spectre non simulé			
		7,0		13,7	15,1	0,4	

Spin-Trapping avec EMPO7

Cinétique EMPO-OOH



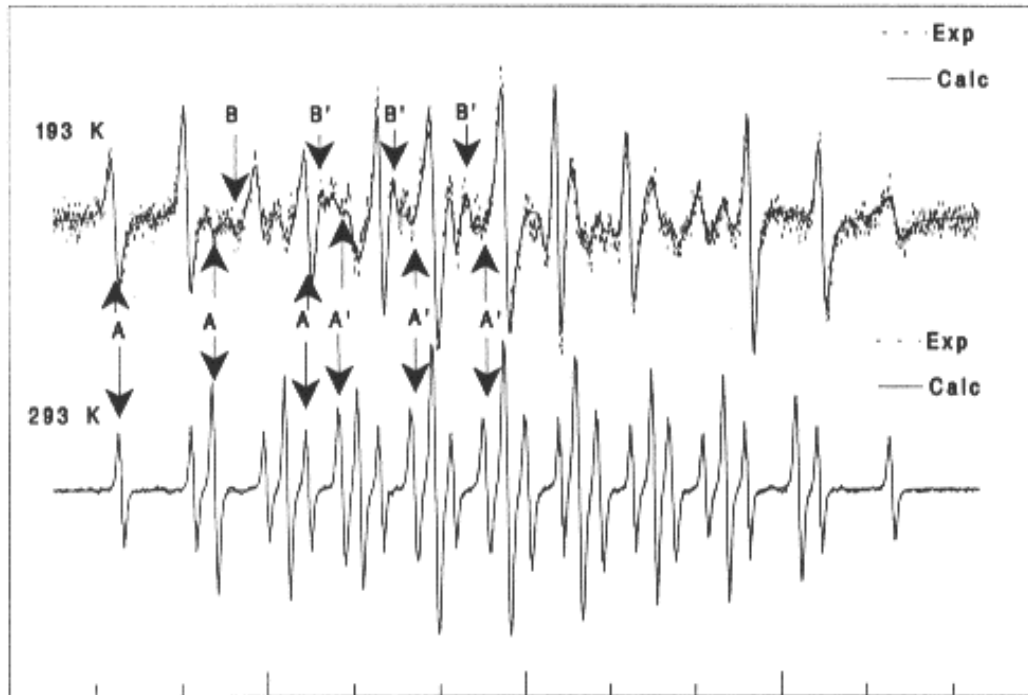
Courbe de décroissance de EMPO-OOH (Tampon phosphate pH 5,6)

pH	5,6	7,0
$\frac{t_{1/2} \text{ DEPMPO}}{t_{1/2} \text{ EMPO}}$	4,7	3,8
$\frac{t_{1/2} \text{ EMPO}}{t_{1/2} \text{ DMPO}}$	16,8	8,2

Etudes de **70NO** , **73NO** et **90NO**

Etude conformationnelle **70NO** et **90NO**

Cas de **70NO**



Spectre RPE de **70NO** dans le dichlorométhane

- Echange conformationnel faisant intervenir la pseudo-rotation du cycle et la rotation autour des liaisons C-P.
- Barrière de potentiel pour l'inversion du cycle 27 kJ.mol^{-1} .
- Barrière de rotation pour la liaison C-P 6 kJ.mol^{-1} .
- A "haute température", la fréquence "d'inversion" du cycle est de l'ordre de 10^{10} Hz .
- Cycle sous forme twist 3T_4 déformée vers une enveloppe E_4 .

Cas de **90NO**

- Groupements diisopropoxyphosphoryle ralentissent significativement les échanges conformationnels.
- Libre rotation du groupement phosphoryle ralentie d'un facteur proche de 6 à 283 K.
- Remplacement du dichlorométhane par du benzène comme solvant ralentit la rotation autour de la liaison C-P d'un facteur 4.

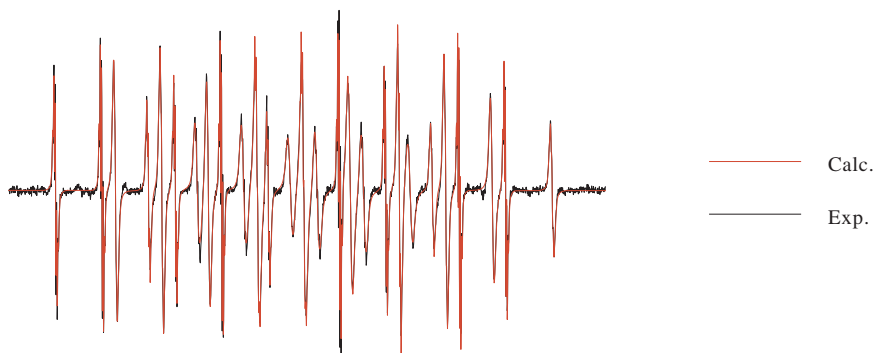
Etudes de **70NO** , **73NO** et **90NO**

Etude des effets de solvant **70NO** et **90NO**

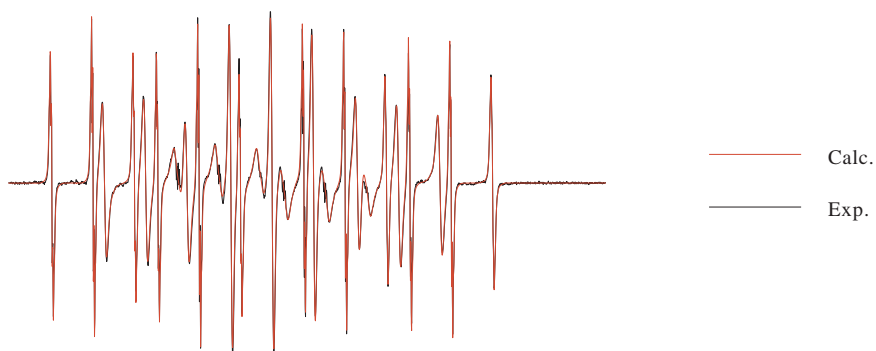
Cas de **70NO**

- Pas de grande variation des constantes de couplage.
- Pas de corrélation entre $E(T)N$ et constantes de couplage. Pas de corrélation avec g .

Cas de **90NO**



Spectre RPE de **90NO** dans le dichlorométhane (25°C)

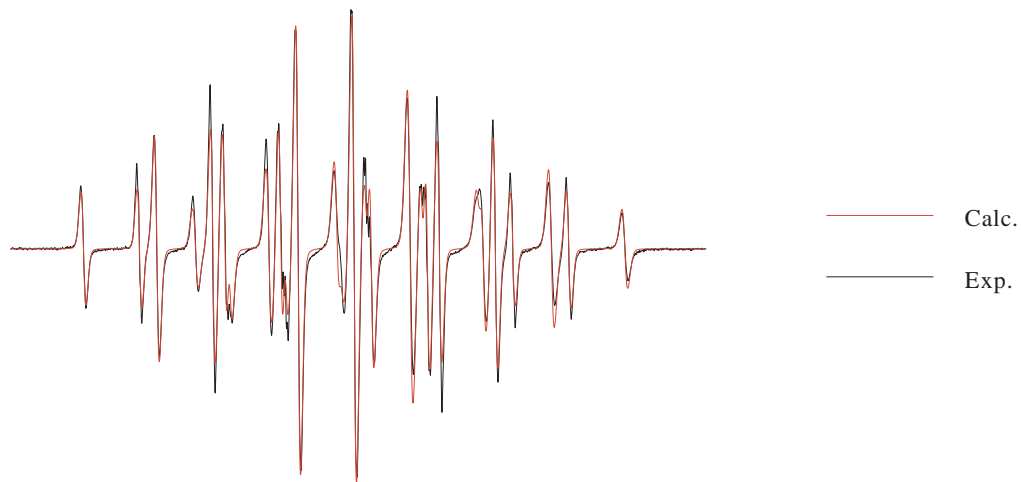


Spectre RPE de **90NO** dans le benzène (25°C)

- Obligation de tenir compte des échanges conformationnels.
- Remplacement du dichlorométhane par du benzène comme solvant modifie le taux d'échange d'un facteur 3,5.

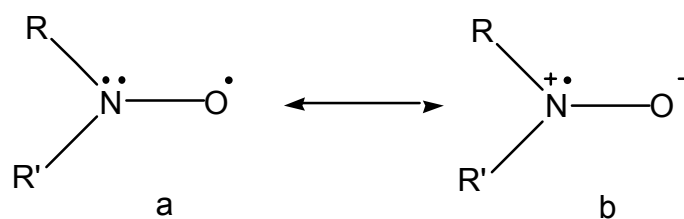
Etudes de **70NO** , **73NO** et **90NO**

Etude du nitroxyde **73NO**



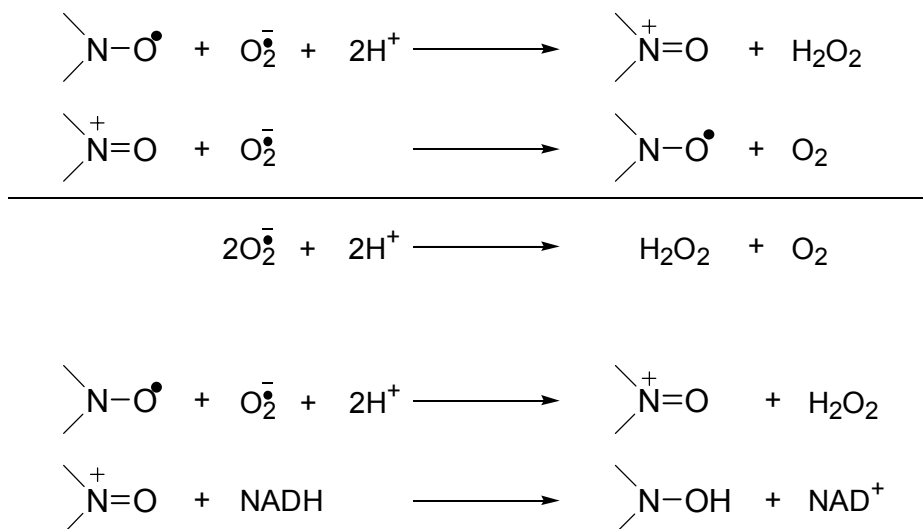
(Spectre RPE du radical 73NO à pH 13 (NaOH / H₂O))

	Solvant	a_N / G	a_{H1} / G	a_{H2} / G	a_{p1} / G	a_{p2} / G	g
73	Soude aqueuse (pH 13)	16,1	21,1	21,0	40,4	40,9	2,0054 ₁
70	Eau	14,5	19,2	19,1	44,6	44,0	2,0058 ₀



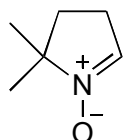
CONCLUSION SUR LE SPIN-TRAPPING

- Pas de différences pour les radicaux autre que le superoxyde.
- Passage surement par un cation oxoamonium -> groupement -P(O)(OEt)₂ empêche la réduction.
- ESP-OOH phosphore éloigné -> comme la DMPO.
- Dans EMPO, -CO₂Et moins électroattracteur que -CF₃.
- Pour DPBO pas d'avantages -> gêne stérique, fort électroattraction.

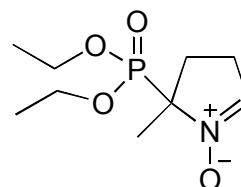


CONCLUSION

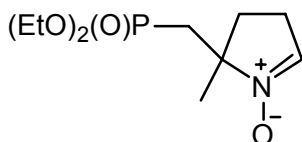
- Objectif de nos travaux de thèse atteint -> ébauche d'une hypothèse.
- Etude des nitroxydes **70NO**, **73NO** et **90NO**.



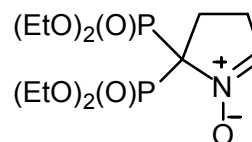
DMPO 1
2,2-diméthyl-3,4-dihydro-*2H*-pyrrole-1-oxyde



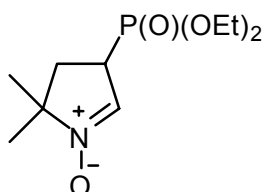
DEPMPO 2
2-diéthoxyphosphoryl-2-méthyl-3,4-dihydro-*2H*-pyrrole-1-oxyde



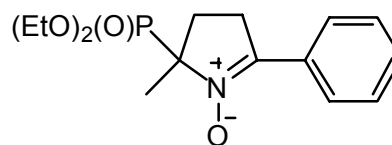
Espaceur ou ESP 3
2-(diéthoxyphosphorylméthyl)-2-méthyl-3,4-dihydro-*2H*-pyrrole-1-oxyde



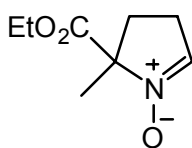
DPBO 4
2,2-bisdiéthoxyphosphoryl-3,4-dihydro-*2H*-pyrrole-1-oxyde



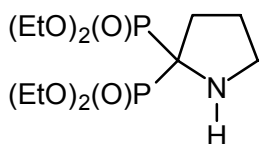
DOP-PD 5
2,2-diméthyl-4-diéthoxyphosphoryl-3,4-dihydro-*2H*-pyrrole-1-oxyde



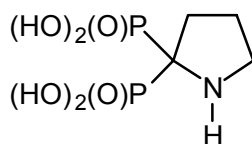
DEPMPO-Ph 6
2-diéthoxyphosphoryl-2-méthyl-5-phényl-3,4-dihydro-*2H*-pyrrole-1-oxyde



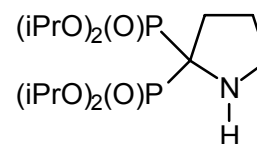
EMPO 7
2-éthoxycarbonyl-2-méthyl-3,4-dihydro-*2H*-pyrrole-1-oxyde



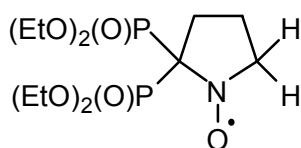
70
(pyrroline-2,2-diyl)
bisphosphonate de tétraéthyle



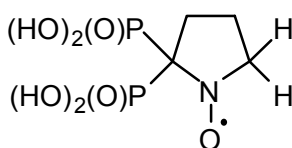
73
acide (pyrrolidine-2,2-diyl)
bisphosphonique



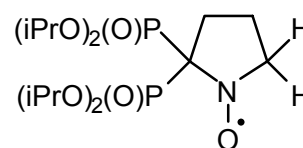
90
(pyrroline-2,2-diyl)
bisphosphonate de tétraisopropyle



70NO
2,2-bis(diéthoxyphosphoryl)
pyrrolidinoxyle



73NO
2,2-bis(dihydroxyphosphoryl)
pyrrolidinoxyle



90NO
2,2-bis(diisopropoxyphosphoryl)
pyrrolidinoxyle