



Synthèse de Nouvelles Nitrones du Type Pyrroline-N-Oxyde - Manuscrit

Gilles Olive

► To cite this version:

Gilles Olive. Synthèse de Nouvelles Nitrones du Type Pyrroline-N-Oxyde - Manuscrit. Autre [q-bio.OT]. Université de droit, d'économie et des sciences - Aix-Marseille III, 1998. Français. NNT : . tel-00003786

HAL Id: tel-00003786

<https://theses.hal.science/tel-00003786>

Submitted on 19 Nov 2003

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.

UNIVERSITE D'AIX-MARSEILLE III - FACULTE DE SAINT JEROME
U.F.R. RECHERCHE SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE

98AIX30024

THESE

pour obtenir le grade de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITE D'AIX-MARSEILLE III
Discipline : CHIMIE ORGANIQUE
présentée et soutenue publiquement

par

Gilles OLIVE

le 12 mars 1998 à 15H00

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

Directeur de thèse : Professeur Paul TORDO

JURY

M. A. ALBERTI	(Rapporteur)
M. G. BUONO	(Président)
M. F. LE MOIGNE	(Examineur)
M. J.-L. PIERRE	(Rapporteur)
M. P. TORDO	(Examineur)
M. S. Van ES	(Examineur)

UNIVERSITE D'AIX-MARSEILLE III - FACULTE DE SAINT JEROME
U.F.R. RECHERCHE SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE

98AIX30024

THESE

pour obtenir le grade de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITE D'AIX-MARSEILLE III
Discipline : CHIMIE ORGANIQUE
présentée et soutenue publiquement

par

Gilles OLIVE

le 12 mars 1998 à 15H00

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

Directeur de thèse : Professeur Paul TORDO

JURY

M. A. ALBERTI	(Rapporteur)
M. G. BUONO	(Président)
M. F. LE MOIGNE	(Examineur)
M. J.-L. PIERRE	(Rapporteur)
M. P. TORDO	(Examineur)
M. S. Van ES	(Examineur)

La chance n'existe pas. Ce que vous appelez chance, c'est
essentiellement l'attention que certains accordent aux détails les plus infimes.
(Sir Winston Churchill)

‘Es felibre aquéu que, de quete biais que siegue, eialto la Patrio prouvençalo.’

A mes parents, sans qui je ne serais rien.

A Béatrice.

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé au laboratoire 'Structure et Réactivité des Espèces Paramagnétiques'.

Qu'il me soit permis de témoigner ma gratitude à Monsieur le Professeur P. TORDO qui l'a dirigé et a suivi sa progression avec un intérêt constant.

Je tiens à remercier tout particulièrement Madame le Docteur A. MERCIER qui m'a guidé, supporté et encouragé tout au long de ce travail ; qu'elle trouve ici toute ma reconnaissance et ma sympathie.

Je remercie Monsieur le Docteur F. LE MOIGNE pour ses conseils, son aide et son encadrement. Je le remercie aussi de sa sympathie et de sa bonne humeur.

J'adresse tous mes remerciements à Monsieur le Professeur A. ALBERTI du C.N.R. de Bologne et à Monsieur le Professeur J.-L. PIERRE de l'Université de Grenoble 1 qui m'ont fait l'honneur de juger ce travail ; qu'il me soit permis de leur exprimer toute ma gratitude.

Je remercie Monsieur le Professeur G. BUONO de l'Université d'Aix-Marseille III, Monsieur le Docteur S. VAN ES de l'Université d'Eindhoven pour l'intérêt qu'ils ont porté à ce travail.

Je suis heureux de remercier tous mes camarades du laboratoire, permanents et étudiants, pour leur efficace collaboration, tout particulièrement M^{elle} Christel BLIEK, M^{elle} Sandra GRIMALDI et M. Antoine CORMONS.

Je note ici l'aide apportée par le personnel de la BU (Sabine, Pascal, Christine, etc. ...) de S^t Jérôme et je les remercie de leur amitié.

Que ma gratitude soit grande à M^{elle} Béatrice MINARI de m'avoir soutenu et aidé pendant la rédaction de ce manuscrit et la présentation de l'oral.

Je remercie aussi M^{elle} Babette FOXONET, M^{elle} Cécile BARTEI, M^{elle} Sandrine EYVASO, M^{elle} Audrey MARTIN, le Maître Jean-Pierre MALOSSE et le Major Hubert NOTO de leur aide et de leur disponibilité. Un grand remerciement aussi à M. Fernand MINARI pour les corrections de ce manuscrit.

Je voudrais encore remercier mes parents de m'avoir toujours soutenu et de me permettre d'obtenir ce titre, et cela dans les meilleures conditions possibles.

SOMMAIRE

0. INTRODUCTION	6
1. LES RADICAUX CENTRÉS SUR L'OXYGÈNE.....	14
1.1. INTRODUCTION.....	16
1.2. RADICAUX LIBRES CENTRES SUR L'OXYGENE.....	18
1.2.1. VOIES DE PRODUCTION EN MILIEU BIOLOGIQUE.....	18
1.2.1.1. La chaîne respiratoire mitochondriale.....	18
1.2.1.2. Sources de production in vivo du radical anion superoxyde : rôle de la xanthine oxydase (XO) et de la NADPH oxydase.....	20
1.2.1.3. L'ischémie-reperfusion myocardique.....	21
1.2.2. SYSTÈMES DE PROTECTION PHYSIOLOGIQUE.....	23
1.2.2.1. Protections enzymatiques.....	24
1.2.2.2. Protections non enzymatiques ou antioxydantes.....	25
1.2.3. PEROXYDATION LIPIDIQUE ACCIDENTELLE	28
1.3. DÉTECTION INDIRECTE DES RADICAUX LIBRES	30
1.3.1. RADICAL ANION SUPEROXYDE $O_2^{\bullet -}$	31
1.3.2. RADICAL HYDROXYLE $HO^{\bullet}$	32
1.3.3. PEROXYDES LIPIDIQUES.....	33
1.4. MÉTHODES DE DÉTECTION PAR RPE.....	34
1.4.1. DIFFÉRENTS RADICAUX	34
1.4.2. SPIN-TRAPPING OU PIÉGEAGE DE SPIN ^{61,68-75}	36
1.5. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	38
2. SYNTHÈSE DES NITRONES	43
2.1. INTRODUCTION	45
2.1.1. CONDENSATION D'UNE HYDROXYLAMINE N-MONOSUBSTITUÉE SUR UN DÉRIVÉ CARBONYLÉ.....	45
2.1.2. OXYDATION DES HYDROXYLAMINES N,N-DISUBSTITUÉES.....	46
2.1.3. N-ALKYLATION D'OXIMES	47
2.1.4. RÉACTION DE DÉRIVÉS NITROSO-AROMATIQUES AVEC DES MÉTHYLÈNES ACTIVÉS : RÉACTION DE KRÖHNKE	47
2.1.5. N-OXYDATION D'IMINES	48
2.2. SYNTHÈSE DU 2-(DIETHOXYPHOSPHORYLMETHYL)-2-METHYL-3,4-DIHYDRO-2H-PYRROLE-1-OXYDE (ESPACEUR OU ESP) 3.....	49
2.2.1. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE DE LA SYNTHÈSE DE 3.....	49
2.2.1.1. Via la réaction d'Arbuzov (Voie n°1).....	51
2.2.1.2. Via l'addition d'un organométallique (Voie n°2 et 2').....	62
2.2.1.3. Via la réduction d'un groupement nitro (Voie n°3).....	64
2.2.2. RÉSULTATS ET DISCUSSION SUR LA SYNTHÈSE DE 3.....	68
2.2.2.1. Via la réaction d'Arbuzov (Voie n°1).....	68
2.2.2.2. Via l'addition d'un organométallique (Voie n°2 et 2').....	73
2.2.2.3. Via la réduction d'un groupement nitro (Voie n°3).....	74
2.2.3. CONCLUSION SUR LA SYNTHÈSE DU 2-(DIÉTHOXYPHOSPHORYLMÉTHYL)-2-MÉTHYL-3,4-DIHYDRO-2H-PYRROLE-1-OXYDE 3.....	75
2.3. SYNTHÈSE DU 5,5-BIS DIETHOXYPHOSPHORYL-3,4-DIHYDRO-2H-PYRROLE-1-OXYDE (DPBO) 4.....	77
2.3.1. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE DE LA SYNTHÈSE DE 4.....	77
2.3.1.1. Via le réarrangement de Beckmann (Voie n°1).....	78
2.3.1.2. Via l'acide (pyrrolidine-2,2-diyl)bisphosphonique 73 (Voie n°2).....	80
2.3.2. RÉSULTATS ET DISCUSSION SUR LA SYNTHÈSE DE 4.....	83
2.3.2.1. Via le réarrangement de Beckmann (Voie n°1).....	83
2.3.2.2. Via l'acide (pyrrolidine-2,2-diyl) bisphosphonique 73 (Voie n°2).....	85

2.3.2.3.	Via la synthèse en une étape de (pyrrolidine-2,2-diyl)bisphosphonate de tétraéthyle 70 (Voie n°3).....	86
2.3.2.4.	Oxydation du (pyrrolidine-2,2-diyl)bisphosphonate de tétraéthyle 70 - Synthèse du 5,5-bisdiéthoxy phosphoryl-3,4-dihydro-2H-pyrrole-1-oxyde (DPBO) 4.....	88
2.3.2.5.	Conclusion sur la synthèse de 4.....	91
2.4.	SYNTHÈSE DU 2,2-DIMÉTHYL-4-DIÉTHOXYPHOSPHORYL-3,4-DIHYDRO-2H-PYRROLE-1-OXYDE (DOP-PD) 5	91
2.4.1.	ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE DE LA SYNTHÈSE DE 5.....	91
2.4.1.1.	Via des réactions classiques (Voie n°1).....	93
2.4.1.2.	Via l'introduction précoce du groupement phosphoré (Voie n°2).....	98
2.4.2.	RÉSULTATS ET DISCUSSION SUR LA SYNTHÈSE DE 5.....	104
2.4.2.1.	Via des réactions classiques (Voie n°1).....	104
2.4.2.2.	Via l'introduction précoce du groupement phosphoré (Voie n°2).....	106
2.4.3.	CONCLUSION SUR LA SYNTHÈSE DU 2,2-DIMÉTHYL-4-DIÉTHOXYPHOSPHORYL-3,4-DIHYDRO-2H-PYRROLE-1-OXYDE 5 (DOP-PD).....	109
2.5.	SYNTHÈSE DU 2-DIÉTHOXYPHOSPHORYL-2-MÉTHYL-5-PHÉNYL-3,4-DIHYDRO-2H-PYRROLE-1-OXYDE (DEPMPO-PH) 6	110
2.5.1.	ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE DE LA SYNTHÈSE DE 6.....	110
2.5.1.1.	Via l'addition d'un organomagnésien (Voie n°1) (Schéma 2-101).....	111
2.5.1.2.	Via la réduction d'un groupement nitro (Voie n°2) (Schéma 2-102).....	111
2.5.2.	RÉSULTATS ET DISCUSSION SUR LA SYNTHÈSE DE 6.....	119
2.5.2.1.	Via l'addition d'un organomagnésien (Voie n°1).....	119
2.5.2.2.	Via la réduction d'un groupement nitro (Voie n°2).....	120
2.5.2.3.	Conclusion sur la synthèse de 6.....	123
2.6.	SYNTHÈSE DU 2-ÉTHOXYCARBONYL-2-MÉTHYL-3,4-DIHYDRO-2H-PYRROLE-1-OXYDE (EMPO) 7.....	124
2.6.1.	ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE DE LA SYNTHÈSE DE 7.....	124
2.6.2.	RÉSULTATS ET DISCUSSION SUR LA SYNTHÈSE DE 7.....	124
2.6.2.1.	Synthèse du 4-formyl-2-méthyl-2-nitrobutanoate d'éthyle 166 ⁶⁶	124
2.6.2.2.	Synthèse de l'EMPO 7.....	125
2.6.3.	CONCLUSION SUR LA SYNTHÈSE DE 7.....	125
2.7.	CONCLUSION SUR LA SYNTHÈSE.....	125
2.8.	RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	127

3. ETUDES R. P. E..... 133

3.1.	INTRODUCTION.....	135
3.1.1.	LE PIÉGEAGE DE SPIN (SPIN-TRAPPING).....	135
3.1.1.1.	Autres pièges ⁵	137
3.1.1.2.	Les dérivés nitroso.....	138
3.1.1.3.	Les nitrones.....	142
3.1.2.	PRODUCTION DE DIVERS RADICAUX.....	148
3.1.2.1.	Production de HO•.....	148
3.1.2.2.	Production du superoxyde O ₂ •-.....	151
3.1.2.3.	Autres radicaux.....	154
3.1.3.	LOGICIELS UTILISÉS AU COURS DE NOS TRAVAUX DE THÈSE	156
3.1.3.1.	Logiciel de simulation RPE.....	156
3.1.3.2.	Logiciel de cinétique DAPHNIS ⁷⁷	159
3.2.	RÉSULTATS ET DISCUSSION.....	161
3.2.1.	SPIN-TRAPPING AVEC LE 2-(DIÉTHOXYPHOSPHORYLMÉTHYL)-2-MÉTHYL-3,4-DIHYDRO-2H-PYRROLE (ESP) 3.....	161
3.2.1.1.	Piégeage du radical hydroxyle.....	161
3.2.1.2.	Piégeage du superoxyde.....	162
3.2.1.3.	Piégeage du radical méthyle et du radical CO ₂ •-.....	163
3.2.1.4.	Autres radicaux.....	165
3.2.1.5.	Cinétiques de décroissance de l'adduit du superoxyde ESP-OOH.....	166
3.2.1.6.	Conclusion sur le spin-trapping avec la nitrone ESP 3.....	167
3.2.2.	SPIN-TRAPPING AVEC LE 2-DIÉTHOXYPHOSPHORYL-2-MÉTHYL-5-PHÉNYL-3,4-DIHYDRO-2H-PYRROLE-1-OXYDE (DEPMPO-PH) 6.....	168
3.2.3.	SPIN-TRAPPING AVEC LE 2,2-BISDIÉTHOXYPHOSPHORYL-3,4-DIHYDRO-2H-PYRROLE-1-OXYDE (DPBO) 4.....	168
3.2.3.1.	Piégeage du radical hydroxyle.....	169
3.2.3.2.	Piégeage du superoxyde.....	170

3.2.3.3.	Piégeage du radical méthyle et du radical $\text{CO}_2^{\bullet}$	173
3.2.3.4.	Piégeage du radical glutathionyle.....	174
3.2.3.5.	Temps de demi-vie de l'adduit DPBO-OOH.....	175
3.2.3.6.	Conclusion sur le spin-trapping avec la DPBO 4.....	177
3.2.4.	SPIN-TRAPPING AVEC LE 2-ÉTHOXYCARBONYL-2-MÉTHYL-3,4-DIHYDRO-2H-PYRROLE-1-OXYDE (EMPO) 7.....	178
3.2.4.1.	Piégeage du radical hydroxyle.....	178
3.2.4.2.	Piégeage du superoxyde.....	179
3.2.4.3.	Piégeage du radical méthyle et du radical $\text{CO}_2^{\bullet}$	181
3.2.4.4.	Autres radicaux.....	182
3.2.4.5.	Etude cinétique de la décroissance de l'adduit du superoxyde sur l'EMPO....	184
3.2.4.6.	Conclusion sur le piégeage avec l'EMPO.....	186
3.2.5.	ETUDES RPE SUR LES NITROXYDES DE 70, 73 ET 90.....	186
3.2.5.1.	Etude conformationnelle sur les nitroxydes 70NO et 90NO.....	187
3.2.5.2.	Etude des effets de solvant sur les spectres RPE de 70NO et 90NO.....	189
3.2.5.3.	Etude du nitroxyde 73NO.....	192
3.2.5.4.	Conclusion sur les différentes études portant sur les nitroxydes 70NO, 73NO et 90NO	193
3.3.	CONCLUSION SUR LE SPIN-TRAPPING.....	194
3.3.1.	PIÉGEAGE DU SUPEROXYDE.....	194
3.3.2.	PIÉGEAGE D'AUTRES RADICAUX.....	196
3.4.	RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	197
4.	CONCLUSION.....	201
5.	PARTIE EXPERIMENTALE.....	207
5.1.	INTRODUCTION.....	209
5.2.	SYNTHÈSE DU 2-(DIETHOXYPHOSPHORYLMETHYL)-2-METHYL-3,4-DIHYDRO-2H-PYRROLE-1-OXYDE (ESP) 3.....	210
5.2.1.	VIA LA RÉACTION D'ARBUZOV (VOIE N°1).....	210
5.2.1.1.	Synthèse du 4-méthylpent-4-én-1-ol 24 ¹	210
5.2.1.2.	Synthèse de la 4-méthylpent-4-én-1-amine 23 ²	211
5.2.1.3.	Synthèse du N-(4-méthylpent-4-én-1-yl) carbamate de benzyle 22.....	212
5.2.1.4.	Cyclisation du N-(4-méthylpent-4-én-1-yl) carbamate de benzyle, obtention du N-(2-iodométhyl-2-méthyl tétraméthylène)carbamate de benzyle 21 ³	213
5.2.2.	VIA LA RÉDUCTION D'UN GROUPEMENT NITRO (VOIE N°3).....	214
5.2.2.1.	Synthèse du (2-hydroxyiminopropan-1-yl) phosphonate de diéthyle 63 ⁴	214
5.2.2.2.	Synthèse du 2-aminopropylphosphonate de diéthyle 31 ⁵	215
5.2.2.3.	Synthèse du 2-nitropropylphosphonate de diéthyle 29 ⁵	216
5.2.2.4.	Synthèse du (4-formyl-2-méthyl-2-nitrobutyl)phosphonate de diéthyle 28.....	217
5.2.2.5.	Synthèse du 2-(diéthoxyphosphorylméthyl)-2-méthyl-3,4-dihydro-2H-pyrrole-1-oxyde (ESP) 3 ⁶	218
5.3.	SYNTHÈSE DU 2,2-BISDIÉTHOXYPHOSPHORYL-3,4-DIHYDRO-2H-PYRROLE-1-OXYDE (DPBO) 4.....	219
5.3.1.	VIA LE RÉARRANGEMENT DE BECKMANN (VOIE N°1).....	219
5.3.1.1.	Synthèse de la cyclobutanone-oxime 71 ^{7,8}	219
5.3.2.	VIA L'ACIDE (PYRROLIDINE-2,2-DIYL)BISPHOSPHONIQUE 73 (VOIE N°2).....	220
5.3.2.1.	Synthèse de l'acide (pyrrolidine-2,2-diyl)bisphosphonique 73 ⁹	220
5.3.3.	VIA LA SYNTHÈSE EN UNE ÉTAPE (VOIE N°3).....	224
5.3.3.1.	Synthèse des (pyrrolidine-2,2-diyl)bisphosphonates de tétraalkyle 70, 90, 91 et 93	224
5.3.3.2.	Synthèse du 2,2-bisdiéthoxyphosphoryl-3,4-dihydro-2H-pyrrole-1-oxyde (DPBO) 4	228
5.4.	SYNTHÈSE DU 2,2-MÉTHYL-4-DIÉTHOXYPHOSPHORYL-3,4-DIHYDRO-2H-PYRROLE-1-OXYDE (DOP-PD) 5.....	230
5.4.1.	VIA DES RÉACTIONS CLASSIQUES (VOIE N°1).....	230
5.4.1.1.	Synthèse du 4-méthyl-4-nitropentanal 65.....	230
5.4.1.2.	Synthèse de l'acide 4-méthyl-4-nitropentanoïque 107.....	231

5.4.2.	VIA L'INTRODUCTION PRÉCOCE DU GROUPEMENT PHOSPHORÉ (VOIE N°2).....	232
0.1.1.1.	Synthèse du 2-diéthoxyphosphorylprop-2-énoate d'éthyle ¹²	232
5.4.2.2.	Synthèse du 2-diéthoxyphosphoryl-4-méthyl-4-nitropentanoate d'éthyle 108 ¹³ 233	
5.4.2.3.	Synthèse du 2,2-diéthoxyéthylphosphonate de diéthyle ¹⁴	234
5.4.2.4.	Synthèse du formylphosphonate de diéthyle ¹⁴	235
5.4.2.5.	Synthèse du 2-bromovalérate d'éthyle.....	236
5.4.2.6.	Synthèse du 2-diéthoxyphosphorylpentanoate d'éthyle 131 ¹⁵	237
5.5.	SYNTHÈSE DU 2-DIÉTHOXYPHOSPHORYL-2-MÉTHYL-5-PHÉNYL-3,4-DIHYDRO-2H-PYRROLE-1-OXYDE (DEPMPO-PH) 6	238
5.5.1.	VIA L'ADDITION D'UN ORGANOMAGNÉSIEN (VOIE N°1).....	238
5.5.1.1.	Synthèse de la DMPO-Ph ^{16,17}	238
5.5.2.	VIA LA RÉDUCTION D'UN GROUPEMENT NITRO (VOIE N°2).....	239
5.5.2.1.	Synthèse du 1-phénylprop-2-én-1-ol.....	239
5.5.2.2.	Synthèse du chlorhydrate de la 3-diméthylamino-1-phénylpropan-1-one 158 ¹⁸ 240	
5.5.2.3.	Synthèse de la 3-diméthylamino-1-phénylpropan-1-one 162 ¹⁹	241
5.5.2.4.	Synthèse de la phénylvinylcétone 138 ¹⁸	242
5.5.2.5.	Synthèse du (1-hydroxyiminoéthanol-1-yl)phosphonate de diéthyle 161 ²⁰ ...	242
5.5.2.6.	Synthèse du 1-nitroéthylphosphonate de diéthyle 137 ²⁰	243
5.5.2.7.	Synthèse du (2-nitro-5-oxo-5-phénylpentan-2-yl)phosphonate de diéthyle 136 ¹³ 244	
5.5.2.8.	Synthèse du 2-diéthoxyphosphoryl-2-méthyl-5-phényl-3,4-dihydro- 2H- pyrrole-1-oxyde (DEPMPO-PH) 6 ⁶	245
5.6.	SYNTHÈSE DU 2-ÉTHOXYCARBONYL-2-MÉTHYL-3,4-DIHYDRO-2H-PYRROLE-1-OXYDE (EMPO) 7	246
5.6.1.	SYNTHÈSE DU 4-FORMYL-2-MÉTHYL-2-NITROBUTANOATE D'ÉTHYLE 166 ¹³ ...	246
5.6.2.	SYNTHÈSE DU 2-ÉTHOXYCARBONYL-2-MÉTHYL-3,4-DIHYDRO-2H-PYRROLE-1-OXYDE (EMPO) 7 ²¹	247
5.7.	R.P.E. - SPIN-TRAPPING	248
5.7.1.	RADICAL HYDROXYLE HO [•]	248
5.7.1.1.	Réaction de Fenton.....	248
5.7.1.2.	Photolyse de l'eau oxygénée à 1 %.....	249
5.7.1.3.	Addition nucléophile de l'eau.....	249
5.7.2.	RADICAL ANION SUPEROXYDE O ₂ ^{•-}	249
5.7.2.1.	Hypoxanthine-xanthine oxydase.....	249
5.7.2.2.	Flavine en présence d'un donneur d'électron.....	250
5.7.2.3.	Photolyse de l'eau oxygénée à 30 %.....	250
5.7.3.	RADICAL MÉTHYLE CH ₃ [•]	250
5.7.3.1.	A partir de la réaction de Fenton.....	250
5.7.3.2.	Par photolyse de l'iodure de méthyle.....	251
5.7.4.	RADICAL CO ₂ ^{•-}	251
5.7.5.	RADICAL GLUTATHIONYLE GS [•]	251
5.7.6.	RADICAL TERTIOBUTOXYLE TBUO [•]	251
5.7.7.	RADICAL TERTIOBUTPEROXYLE TBUOO [•]	252
5.7.8.	ADDUIT H.....	252
5.8.	RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	253

6. ANNEXES..... 255

6.1.	DIAGRAMMES DE O₂	257
6.2.	SYNTHÈSE DE 3	259
6.3.	SYNTHÈSE DE 4	267
6.3.1.	SYNTHÈSE DU N-TERTIOBUTYL AMINOMÉTHYLÈNE BISPHOSPHONATE DE TÉTRAÉTHYLE 95 ³	267
6.3.2.	PROPOSITION DE MÉCANISME DE LA RÉACTION DE GEM DIPHOSPHORYLATION - EXEMPLE APPLIQUÉ À LA SYNTHÈSE DES COMPOSÉS CYCLIQUES	268
6.4.	RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	269

6.5.	TABLES ET SOMMAIRE.....	271
6.5.1.	TABLE DES ÉQUATIONS.....	271
6.5.2.	TABLE DES FIGURES.....	271
6.5.3.	TABLE DES SCHÉMAS.....	272
6.5.4.	TABLE DES TABLEAUX.....	277
6.5.5.	TABLE DES MATIÈRES.....	278

0. INTRODUCTION

Le savant n'est pas l'homme qui fournit les vraies réponses,
c'est celui qui pose les vraies questions.
(C. Lévi-Strauss)

A partir de l'oxygène moléculaire O_2 , divers radicaux ($O_2^{\cdot-}$, $HOO^{\cdot}$, $HO^{\cdot}$...) peuvent être formés *in vivo*¹. En situation physiologique normale la concentration de ces espèces est contrôlée par divers enzymes (SOD, catalases, peroxydases ...) et antioxydants endogènes (ascorbate, vitamine E, acide urique ...). Si l'équilibre entre les espèces prooxydantes (radicaux oxygénés, H_2O_2 ...) et les espèces antioxydantes est rompu, on se trouve dans une situation de "stress oxydatif" qui peut occasionner ou aggraver une pathologie. Chez les mammifères, la surproduction de superoxyde par les macrophages est une étape clé dans le processus de phagocytose¹ qui permet l'élimination de corps étrangers (bactéries, particules diverses ...).

De nombreux laboratoires s'intéressent à l'étude de la caractérisation et du rôle des radicaux libres oxygénés dans divers processus biologiques. La technique de choix pour l'étude des radicaux libres est la Résonance Paramagnétique Electronique (R.P.E.). Or, de par leur structure² et leur très courte durée de vie³, les radicaux centrés sur l'oxygène ne sont pas détectables directement en RPE. Pour leur mise en évidence aussi bien *in vitro* qu'*in vivo* on utilise la méthode de piégeage de spin ou spin-trapping⁴ dont le principe est schématisé ci-dessous : (Schéma 0-1)

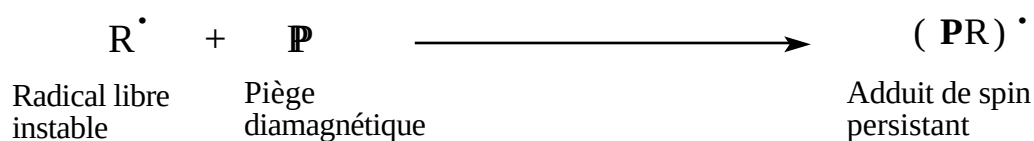


Schéma 0-1 : Principe du spin-trapping

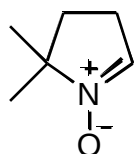
La détection par RPE de l'adduit $(PR)^{\cdot}$ est facile, l'analyse de son spectre RPE permet alors d'obtenir des informations sur le radical piégé $R^{\cdot}$. Il existe deux classes principales de pièges : les nitrones et les dérivés nitroso. C'est la nature du radical $R^{\cdot}$, les informations désirées et le milieu utilisé qui déterminent le choix du piège.

Actuellement c'est le 2,2-diméthyl-3,4-dihydro-2H-pyrrole-1-oxyde (DMPO) **1** qui est le piège le plus utilisé pour le piégeage de spin, mais la DMPO présente plusieurs inconvénients :

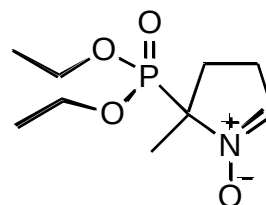
- Sa faible liposolubilité⁵ limite les mesures au milieu extra-cellulaire.
- La vitesse de piégeage du superoxyde est faible ($10 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ à pH 7,8⁶), de plus l'adduit formé est peu persistant ($t_{1/2} \approx 50 \text{ s}$ à pH 7,4 à 25°C⁷, $t_{1/2} = 60 \text{ s}$ à pH 7,0⁸).
- Dans les conditions physiologiques (température, pH), la DMPO en solution aqueuse n'est pas stable et donne des traces de radicaux nitroxyde qui gênent l'interprétation des spectres RPE^{3,7,9-13}.
- L'adduit DMPO-OOH se décompose rapidement en adduit DMPO-OH ce qui peut entraîner des confusions sur la nature des radicaux piégés^{6,14}.

- 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^{9,10,12}.

La recherche de nouvelles nitrones, plus performantes que la DMPO pour le piégeage de spin dans les milieux biologiques, a été entreprise par plusieurs équipes^{5,8}. Le laboratoire SREP a mis au point la synthèse du 2-diéthoxyphosphoryl-2-méthyl-3,4-dihydro-2*H*-pyrrole-1-oxyde (DEPMPO) **2** qui s'est avéré sous certains aspects plus performant que la DMPO : absence d'addition nucléophile de l'eau dans des conditions physiologiques et surtout une stabilité accrue de l'adduit superoxyde (jusqu'à 20 fois plus stable à pH 5,6)¹⁵⁻¹⁹. On a constaté aussi une légère augmentation de la lipophilie, ainsi que la non transformation de l'adduit superoxyde en adduit hydroxyle.

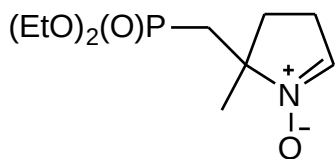
DMPO **1**

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

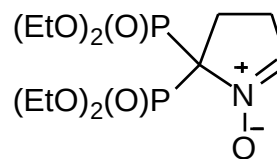
DEPMPO **2**

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

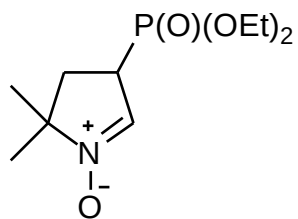
Afin de mieux cerner l'importance des effets électroniques et stériques du groupe -P(O)(OEt)₂ sur les performances de la DEPMPO, notre travail de thèse a consisté à préparer les nitrones ci-dessous et à étudier leurs performances dans le piégeage du superoxyde et d'autres types de radicaux.

Espaceur ou ESP **3**

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

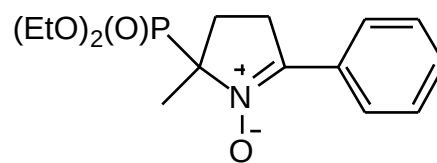
DPBO **4**

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



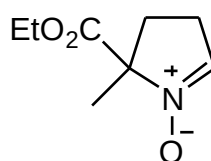
DOP-PD 5

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



DEPMPO-Ph 6

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



EMPO 7

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

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- (1) Halliwell, B.; Gutteridge, J. M. C. *Free radicals in Biology and Medicine*; Clarendon Press: Oxford, **1989**.
- (2) Buettner, G. R. *Free Radical Biology & Medicine* **1987**, 3, 259-303.
- (3) Makino, K.; Hagiwara, T.; Imaishi, H.; Nishi, M.; Fujii, S.; Ohya, H.; Murakami, A. *Free Rad. Res. Comms.* **1990**, 9, 233-240.
- (4) Anderson Evans, C. *Aldrichima Acta* **1979**, 12, 23-29.
- (5) Turner III, M. J.; Rosen, G. M. *J. Med. Chem.* **1986**, 29, 2439-2444.
- (6) Finkelstein, E.; Rosen, G. M.; Rauckman, E. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, 102, 4994-4999.
- (7) Buettner, G. R.; Oberley, L. W. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1978**, 83, 69-74.
- (8) Sankuratri, N.; Kotake, Y.; Janzen, E. G. *Free Radical Biology & Medicine* **1996**, 21, 889-894.
- (9) Makino, K.; Hagiwara, T.; Hagi, A.; Nishi, M.; Murakami, A. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1990**, 172, 1073-1080.
- (10) Makino, K.; Hagi, A.; Ide, H.; Murakami, A. *Can. J. Chem.* **1992**, 70, 2818-2827.
- (11) Janzen, E. G.; Zhang, Y.-K.; Arimura, M. *Chem. Lett.* **1993**, 497-500.
- (12) Chamulitrat, W.; Iwahashi, H.; Kelman, D. J.; Mason, R. P. *Arch. Biochem. Biophys.* **1992**, 296, 645-649.
- (13) Rosen, G. M.; Rauckman, E. J. *Methods in Enzymology* **1984**, 105, 198-209.
- (14) Finkelstein, E.; Rosen, G. M.; Rauckman, E. J. *Mol. Pharmacol.* **1982**, 21, 262-265.
- (15) Fréjaville, C.; Karoui, H.; Tuccio, B.; Le Moigne, F.; Culcasi, M.; Pietri, S.; Lauricella, R.; Tordo, P. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1994**, 1793-1794.
- (16) Fréjaville, C.; Karoui, H.; Tuccio, B.; Le Moigne, F.; Culcasi, M.; Pietri, S.; Lauricella, R.; Tordo, P. *J. Med. Chem.* **1995**, 38, 258-265.
- (17) Tuccio, B.; Lauricella, R.; Fréjaville, C.; Bouteiller, J.-C.; Tordo, P. *J. Chem. Soc. Perkins Trans. 2* **1995**, 295-298.
- (18) Fréjaville, C.; Karoui, H.; Le Moigne, F.; Culcasi, M.; Pietri, S.; Tordo, P. *Brevet français* **1993**, N° PV 9308906, 20 juillet.
- (19) Barbati, S.; Clément, J. L.; Olive, G.; Roubaud, V.; Tuccio, B.; Tordo, P. In *Free Radicals in Biology and Environment*; F. Minisci, Ed.; Kluwer Academic Publishers: Dordrecht / Boston / London, **1997**; Vol. 27 - 3. High Technology; pp 39-47.

1. LES RADICAUX CENTRES SUR L'OXYGENE

Si les noms sont incorrects le langage ne
sera pas en accord avec la vérité des choses.
(Confucius)

1.1.INTRODUCTION

L'oxygène peut être considéré comme un biradical, toutefois, compte tenu de la règle de conservation de spin total au cours d'une réaction¹, sa réactivité reste faible. Cependant, aussi bien *in vitro* qu'*in vivo* l'oxygène peut être facilement réduit et plusieurs espèces très réactives peuvent se former au cours de ce processus de réduction^{2,3} : (Schéma 1-1)

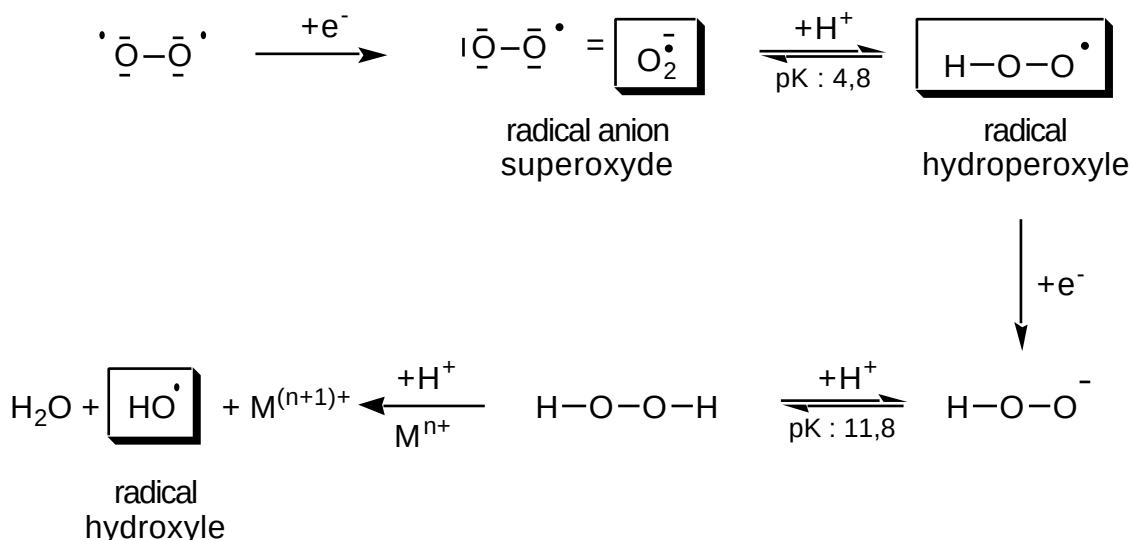


Schéma 1-1 : Réduction de l'oxygène
en eau par étape monoélectronique

Le radical hydroxyle et le peroxyde d'hydrogène sont des oxydants puissants ($E^\circ \text{H}_2\text{O}_2 / \text{H}_2\text{O} = 1,35 \text{ V}$ à pH 7^{4,5} ; $E^\circ \text{HO}^\cdot / \text{}^-\text{OH} = 1,77 \text{ V}$ à pH 7⁶), alors que le superoxyde est un bon réducteur ($E^\circ \text{O}_{2(\text{aq})} / \text{O}_2^{\cdot -} = -0,16 \text{ V}$ à pH 7⁶), un oxydant doux ($E^\circ \text{O}_2^{\cdot -} / \text{H}_2\text{O}_2 = 0,94 \text{ V}$ à pH 7⁶), mais peut initier lui aussi une réaction en chaîne⁷. Une production anormale de radicaux oxygénés et de peroxyde d'hydrogène a été établie dans diverses physiopathologies : processus inflammatoires⁸, lésions de l'ADN⁹⁻¹², syndrome lié à l'ischémie-reperfusion (myocardique¹³⁻¹⁶, cérébrale¹, intestinale¹⁴, rénale¹⁷, etc...), vieillissement cellulaire¹⁸, cancers^{19,20}, arthrite rhumatoïdale²¹, Toutefois la contribution des radicaux oxygénés à l'étiologie de ces physiopathologies est encore mal connue. On retrouve les radicaux oxygénés non seulement dans le règne animal mais aussi dans le règne végétal notamment dans l'hévéa en réponse aux saignées pratiquées pour le latex²².

Les radicaux oxygénés ont en général une très grande réactivité, ce qui leur confère une durée de vie très brève (Tableau 1-1) dans les tissus ou les milieux biologiques.

Radicaux	Temps de demi-vie /s	Concentration en Linoleate	Réf.
HO [•]	10 ⁻⁹	1M	23
RO [•]	10 ⁻⁶	100 mM	23
ROO [•]	7	1 mM	23
O ₂ ^{-•}	Voir note ^a		23

Tableau 1-1 : Temps de demi-vie calculé de divers radicaux oxygénés (37 °C).

Les espèces radicalaires peuvent être étudiées à l'aide de différentes techniques parmi lesquelles la Résonance Paramagnétique Electronique (R. P. E.) qui est la seule méthode directe. La limite de détection pratique est de 10⁻⁶ M (détection théorique 10⁻⁸ M)^{25,26}. Il faut donc que dans les milieux biologiques étudiés, les radicaux soient en concentration supérieure à ce seuil²⁷. En raison de leur grande réactivité (voir Tableau 1-1), les radicaux libres d'intérêt biologique n'atteignent jamais cette concentration, ce qui rend leur détection directe dans les conditions physiologiques impossible par RPE²⁵.

Dans ce chapitre d'introduction, nous examinerons brièvement, concernant les radicaux libres centrés sur l'oxygène :

- les principaux modes de production cellulaire
- les principales méthodes de détection aussi bien indirectes que directes (RPE)

^a Le temps de demi-vie du superoxyde ne peut être calculé tant que les concentrations en superoxyde dismutases (SOD) et tous les substrats réactifs ne sont pas connus. Cependant le temps de demi-vie dans l'environnement cellulaire dans l'eau doit être très faible, trop faible pour permettre une diffusion sur une grande distance. Mais le temps de demi-vie du radical hydroperoxyde (HOO[•]) dans les milieux organiques ou lipophiles peut être plus long²⁴.

1.2.RADICAUX LIBRES CENTRES SUR L'OXYGENE

1.2.1.Voies de production en milieu biologique

Les radicaux libres sont présents dans les cellules, notamment lors de la biosynthèse (par exemple synthèse de prostaglandine²⁸) ou de la dégradation²⁹ normale de molécules bioactives.

1.2.1.1.La chaîne respiratoire mitochondriale

La cytochrome oxydase (enzyme terminale de la chaîne respiratoire mitochondriale) catalyse, au cours de la respiration cellulaire, la métabolisation de l'oxygène en eau. Ce processus est couplé à la production d'ATP. Cette voie, qui concerne plus de 90 % de l'oxygène ne libère pas d'intermédiaires radicalaires, ceux-ci restant très liés au site actif de la cytochrome oxydase¹. Il existe cependant une autre voie procédant par réduction monoélectronique, représentant 5 % du métabolisme de l'oxygène³⁰ (Schéma 1-1).

La durée de vie de ces radicaux est en général très faible (Voir Tableau 1-1). Le radical anion superoxyde peut se dismuter spontanément (Schéma 1-2) ou être éliminé par une superoxyde dismutase (SOD) (Schéma 1-3)^{2,31}.

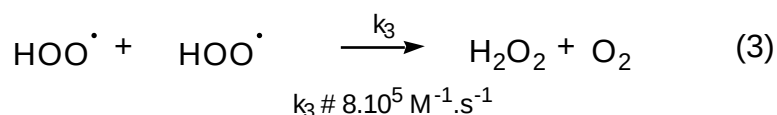
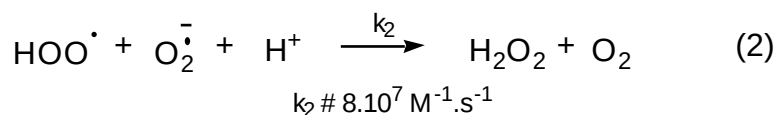
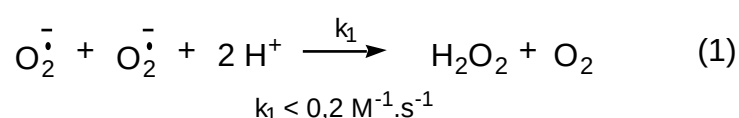


Schéma 1-2 : Dismutation du radical anion superoxyde

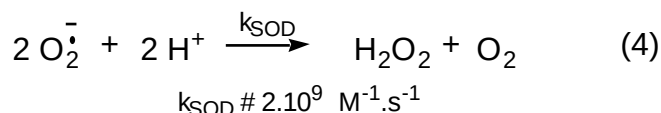


Schéma 1-3 : Dismutation du radical anion
superoxyde catalysée par la SOD

La dismutation du radical anion superoxyde, bilan des réactions (1), (2), (3) est généralement représentée (par abus de langage) par l'équation (1). On note que les réactions (1), (2) et (3) ont des constantes de vitesse très différentes³². La réaction de dismutation spontanée est plus rapide à pH acide ($k_D = 5.10^5 \text{ M}^{-1}.\text{s}^{-1}$ à pH 7 ; $k_D \# 10^2 \text{ M}^{-1}.\text{s}^{-1}$ à pH 11³²) : à pH acide, c'est la forme $\text{HOO}^\bullet$ qui prédomine, alors qu'à pH basique c'est la forme $\text{O}_2^{\cdot -}$. La faible réactivité à pH basique peut être attribuée à la répulsion électrostatique entre les anions superoxydes². Les superoxyde dismutases (SOD) qui catalysent la réaction de dismutation du superoxyde ($k_D = 3.10^9 \text{ M}^{-1}.\text{s}^{-1}$ à pH 7,0³¹) seront présentées au paragraphe a de la page 24.

Le peroxyde d'hydrogène formé lors de la dismutation du superoxyde sera éliminé naturellement de la cellule par voie enzymatique (catalases et peroxydases). Mais si, pour des raisons pathologiques, ce peroxyde d'hydrogène ne peut être éliminé, son excès peut entraîner la formation de radical hydroxyle ($\text{HO}^\bullet$) qui est l'intermédiaire le plus réactif et le plus toxique (Schéma 1-1)²⁷. Dans la même publication, Slater²⁷ reporte toutes les réactions possibles des radicaux, et indique d'autres radicaux induisant des pathologies ($\text{CCl}_3^\bullet$, ...).

Il existe deux réactions pouvant induire la formation de $\text{HO}^\bullet$. Elles sont représentées dans le Schéma 1-4.

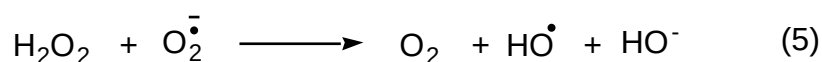


Schéma 1-4 : Réaction de formation
du radical hydroxyle

La réaction (5) est connue sous le nom de réaction d'Haber-Weiss³³. Elle peut être catalysée par des ions métalliques libres ou complexés (par exemple Fe^{3+} , Cu^{2+})^{1,7,15,30}. En réalité la réaction (5) est la somme de deux étapes (Schéma 1-5). La réaction d'haber-Weiss (5) est trop lente ($k \leq 0,13 \text{ M}^{-1}.\text{s}^{-1}$) pour être prise en considération en l'absence de catalyseur⁶.

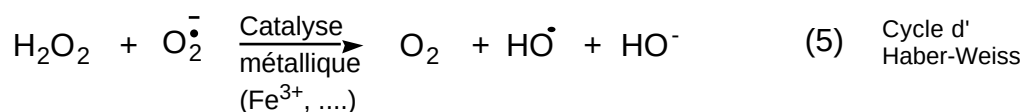
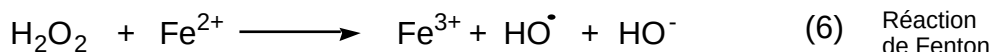
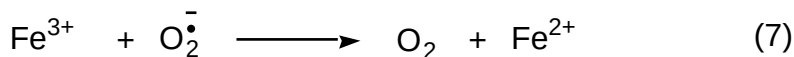


Schéma 1-5 : Cycle d'Haber-Weiss

1.2.1.2. Sources de production *in vivo* du radical anion superoxyde : rôle de la xanthine oxydase (XO) et de la NADPH oxydase

Bien que la xanthine oxydase (XO) soit fréquemment utilisée comme source de superoxyde dans les expériences *in vitro*, dans les tissus normaux l'activité d'oxydation est due essentiellement à une enzyme déshydrogénase (XD). Celle-ci, comme la XO, oxyde l'hypoxanthine et la xanthine en acide urique. Contrairement à la XO qui fonctionne avec l'oxygène moléculaire, la XD transfère les électrons sur NAD^+ (Nicotinamide - Adénine dinucléotide)³² (Schéma 1-6).

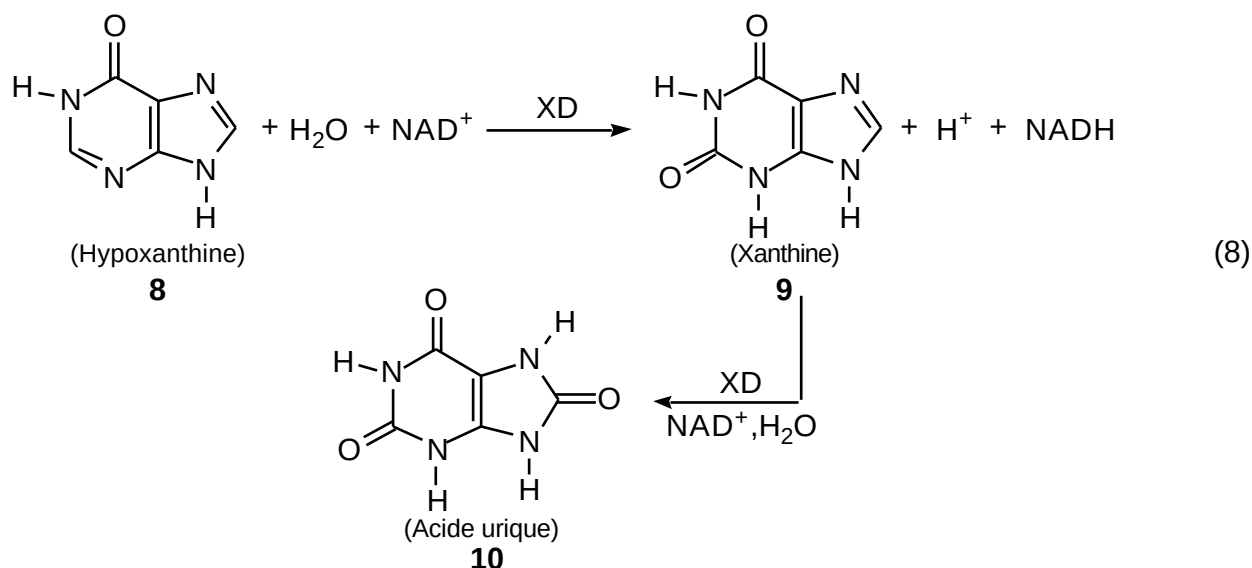


Schéma 1-6 : Fonctionnement de cellule normale

Dans les tissus normaux, 90 % de l'activité est due à XD¹⁴. Quand les cellules sont détruites, la déshydrogénase (enzyme) est convertie en l'enzyme oxydase (XO) par oxydation de groupe SH essentiel ou par une protéolyse limitée (par les calcium protéases)^{16,32}. La source

majeure de superoxyde dans les tissus post-ischémiés apparaît être la xanthine oxydase. McCord a découvert que la transformation de XD en XO se fait *in vivo* dans les tissus ischémiés¹⁴. La xanthine oxydase (XO) utilise l'oxygène moléculaire au lieu de NAD⁺, produisant du superoxyde, de l'eau oxygénée ou bien les deux^{14,15,34} (Schéma 1-7).

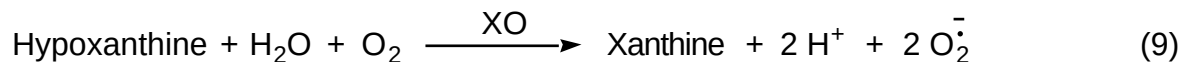


Schéma 1-7 : Production de superoxyde par la XO

Face aux situations pathologiques, l'organisme a mis au point les systèmes de défense que sont les cellules endothéliales et les polynucléaires neutrophiles^{15,16}. Ils agissent en produisant enzymatiquement des radicaux libres oxygénés et particulièrement le radical anion superoxyde $\text{O}_2^{\cdot -}$ ³⁵. Dans les neutrophiles, au cours d'une action bactéricide ou en réponse à une ischémie-reperfusion, la NADPH oxydase réduit l'oxygène moléculaire pour former l'anion superoxyde, pendant que la NADPH est oxydée en NADP. Alors la myéloperoxydase (localisée dans les granulocytes des neutrophiles) peut convertir l'eau oxygénée en acide hypochloreux toxique (HOCl)¹⁶. Il est possible que dans un tissu ischémié interviennent des cellules responsables de réactions inflammatoires³⁵. Ceci augmente l'apport de radical superoxyde et occasionne donc des dommages cellulaires supplémentaires.

1.2.1.3.L'ischémie-reperfusion myocardique

Les radicaux libres centrés sur l'oxygène sont suspectés d'être la cause d'une partie des altérations cellulaires qui interviennent au cours d'une ischémie^{15,30,34,36}.

Lors d'une ischémie myocardique, c'est-à-dire lorsque les apports sanguins coronariens sont inférieurs aux besoins tissulaires, on observe rapidement une cascade d'évènements biochimiques pouvant entraîner une nécrose des tissus si cette ischémie est sévère et prolongée¹⁴. A l'heure actuelle la physiologie de l'ischémie myocardique n'est pas complètement connue et plusieurs théories sont contradictoires. Hess *et al.*³⁷ ont fait le point sur certaines de ces théories. Toutefois, en ce qui concerne la production de radicaux libres lors d'une ischémie-reperfusion, il est possible de préciser les points suivants :

- Ce n'est pas pendant la période de privation de l'oxygène qu'ont lieu les plus grosses altérations mais lorsque l'oxygène moléculaire est réintroduit dans les tissus¹⁴, ceci étant dû à la forte concentration d'anion superoxyde issu de la réduction de l'oxygène moléculaire apporté massivement. Cette réduction est due aux réducteurs présents dans la cellule ou formés lors de l'ischémie (§ 1.2.1.2 p 20 et Schéma 1-8).

- C'est le système de la xanthine oxydase (XO), qui est présent et actif dans certaines cellules et chez certaines espèces animales³².

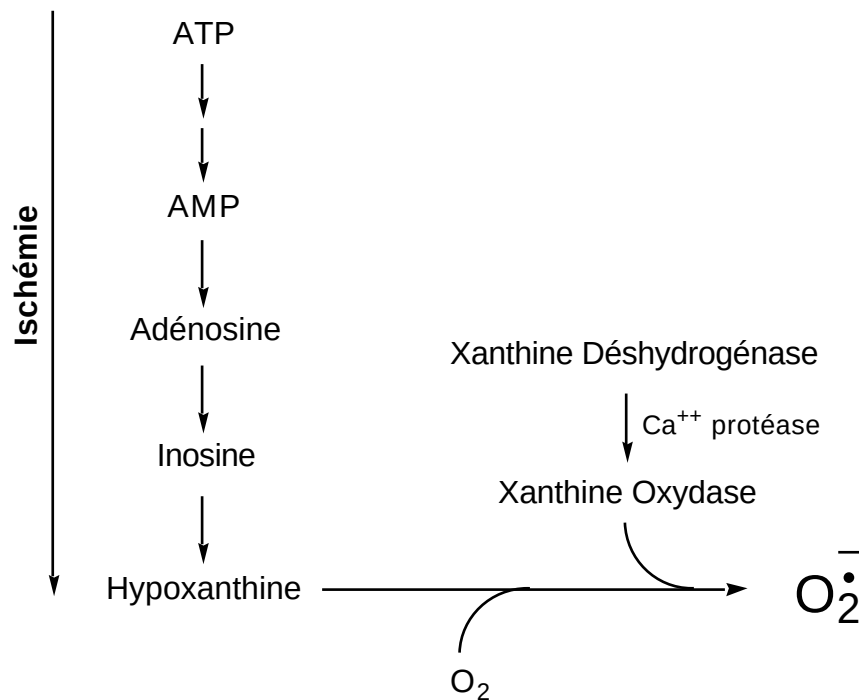


Schéma 1-8 : Mécanisme proposé pour la production de superoxyde induite par une ischémie¹⁴

Comme on peut le voir sur le Schéma 1-8, lors de l'ischémie il y a accumulation d'hypoxanthine⁷ dans les tissus myocardiques. Nous avons dit au chapitre 1.2.1.2 (page 20) que l'hypoxanthine est transformée normalement en acide urique (*via* la xanthine) par la XD et le couple $\text{NAD}^+ / \text{NADH}$. Lors de l'ischémie, la XD est convertie en XO par une protéase calcium-dépendante¹⁶. Cela implique que lors de la réintroduction de l'oxygène il en résulte une réduction rapide de celui-ci, produisant des quantités relativement importantes de radical anion superoxyde susceptibles d'endommager les structures phospholipidiques et les protéines : c'est ce qu'on appelle le paradoxe de l'oxygène³⁰.

De plus lors d'une ischémie, les défenses naturelles présentes dans les cellules sont considérablement diminuées³⁸. Les radicaux libres formés lors de l'ischémie (et qui ne sont pas détruits par les défenses restantes) sont capables de modifier ou de détruire un grand nombre de molécules présentes dans la cellule : protéines, glucides, lipides, ARN et ADN^{9-11,19,21}. Ce sont surtout les radicaux hydroxyle qui sont particulièrement dangereux notamment dans la peroxydation lipidique entraînant la mort cellulaire³⁹ (§ 1.2.3 p 28).

En résumé le Schéma 1-9 montre le phénomène observé lors d'une ischémie-reperfusion réversible myocardique¹⁵.

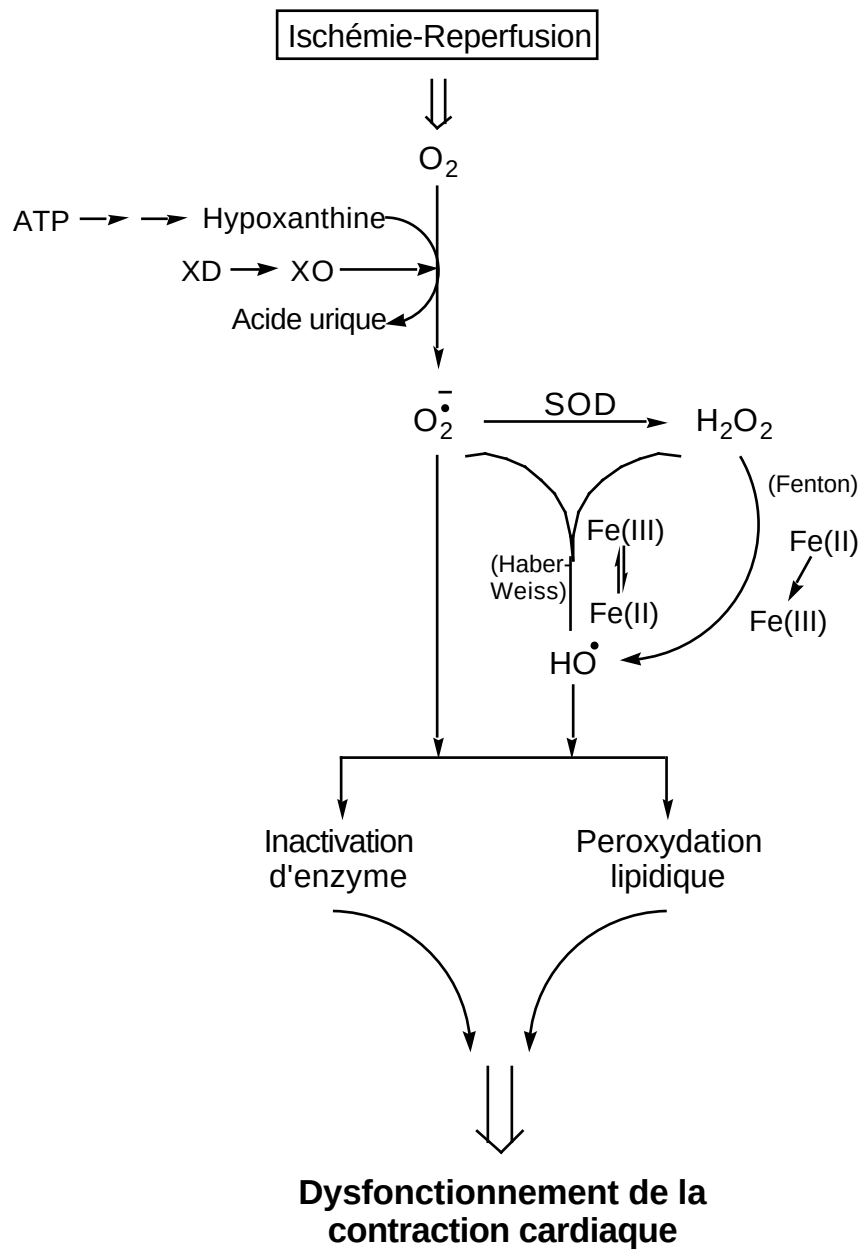


Schéma 1-9 : Résumé Ischémie - Reperfusion

1.2.2. Systèmes de protection physiologique

Lors de l'évolution, les cellules ont développé deux grands systèmes de défense contre les radicaux libres :

- les défenses enzymatiques
- les défenses non enzymatiques ou antioxydants

1.2.2.1. Protections enzymatiques

Pour chaque intermédiaire présent dans le Schéma 1-1, la nature a développé une protection enzymatique spécifique. De plus, ce sont généralement des antioxydants préventifs au sens de Burton⁴⁰.

a. Superoxyde Dismutases^{1,2,20}

Les superoxyde dismutases (SOD) constituent un des systèmes majeurs de défense pour les cellules aérobies combattant l'effet toxique de O_2 . Ces enzymes accélèrent considérablement la réaction (1) (Schéma 1-2 et Schéma 1-3), détruisant rapidement $O_2^{\cdot -}$ et ainsi préviennent les effets directs toxiques comme l'interaction avec un ion métallique qui augmente la production de $HO^{\cdot}$ (Schéma 1-5).

Toutes les SOD sont des métalloprotéines¹, avec aux sites actifs différents métaux (Fe, Zn, Cu, Mn)^{2,20}. Les enzymes contenant du fer (FeSOD) ou du manganèse (MnSOD) sont caractéristiques des cellules procaryotes alors que les enzymes contenant du zinc et du cuivre (CuZnSOD) sont elles caractéristiques des cellules eucaryotes² (ceci est une indication sur l'histoire de l'évolution). Dans les cellules aérobies (par exemple celles de l'homme, de la levure, du rat, du poulet, etc...), qui possèdent les deux types de SOD, la distribution est alors la suivante^{1,2,38} :

- la forme MnSOD est localisée dans les matrices mitochondriales
- la forme mixte CuZnSOD se trouve dans le cytosol.

Les SOD catalysent les réactions (1)-(3) (Schéma 1-2). La constante de vitesse se situe entre 10^8 et $5.10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ selon le pH et l'ion métallique³¹ :

- dismutation spontanée du superoxyde : $k_D = 8.10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ à pH 7,9³¹
- dismutation catalysée par MnSOD : $k_D = 1,3 \cdot 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ à pH 7,9³¹.

La SOD coopère avec d'autres enzymes (catalase et peroxydase) pour réduire H_2O_2 en eau.

b. Les catalases (Cat.)⁴¹

Les catalases sont généralement des enzymes héminiques^{41,42}. Dans les cellules elles sont localisées dans la matrice peroxisomale¹. Les catalases tout comme la SOD ne nécessitent pas de cofacteurs⁴³. Les catalases favorisent la dismutation de l'eau oxygénée (Schéma 1-10).

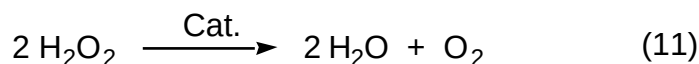


Schéma 1-10 : Décomposition de l'eau oxygénée par les catalases

Les catalases sont fortement présentes dans le foie, les reins et les érythrocytes, mais seulement en petite quantité dans le cerveau¹ et dans le myocarde pour lequel cet inconvénient est atténué par la présence d'une autre enzyme : la glutathion peroxydase.

c. Glutathion peroxydase (GPX)

La glutathion peroxydase est une sélénoenzyme⁴². La GPX est localisée dans les mitochondries et le cytosol. La GPX nécessite un cofacteur : le glutathion réduit (GSH) (glutamine - cystéine - glycine). La GPX catalyse la réduction de l'eau oxygénée en eau (Schéma 1-11) et les hydroperoxydes d'alkyle en alcool.

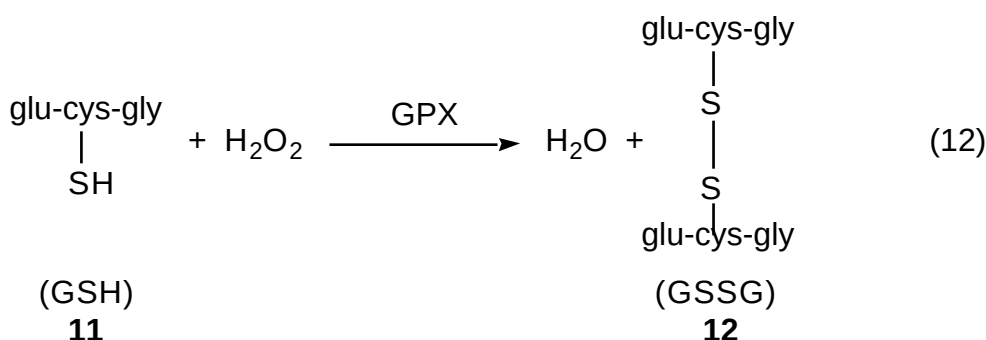


Schéma 1-11 : Réduction de l'eau oxygénée par GPX

GSSG **12** est reconvertie en GSH **11** par la glutathion réductase. La GPX a une forte activité³⁸.

1.2.2.2. Protections non enzymatiques ou antioxydantes

Les antioxydants⁴⁴⁻⁴⁷, sont, selon une définition large de Halliwell et Gutteridge³² "toute substance qui, lorsque présente à faible concentration comparée à celle d'un substrat oxydable, ralentit considérablement ou prévient l'oxydation de ce substrat". Ils réagissent rapidement avec les radicaux libres et conduisent alors à la formation d'autres radicaux, stabilisés donc moins réactifs. Ce sont généralement des antioxydants "chain-breaking"⁴⁰.

a. Vitamine C ou acide ascorbique

La vitamine C, faiblement liposoluble, agit essentiellement en milieu aqueux⁴². La vitamine C réagit rapidement avec le superoxyde ($k = 1,25 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)⁴⁸ et le radical hydroxyle ($k = 1,1 \cdot 10^{10} \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ à pH 7,0)⁴⁸ (Schéma 1-12).

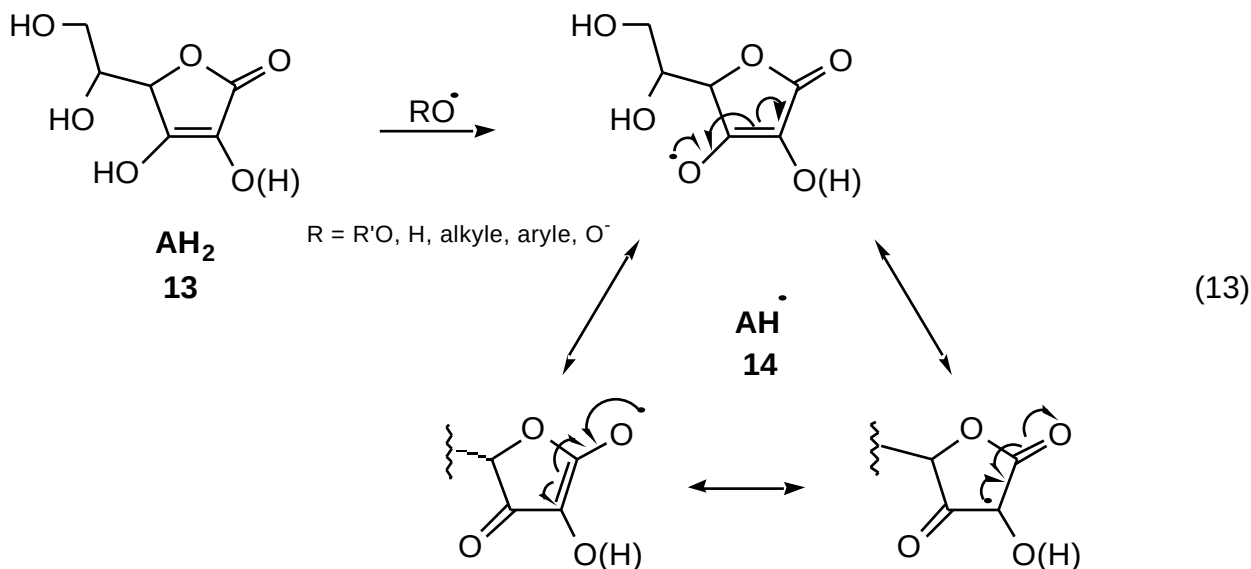


Schéma 1-12 : Réaction de la vitamine C avec des radicaux oxygénés

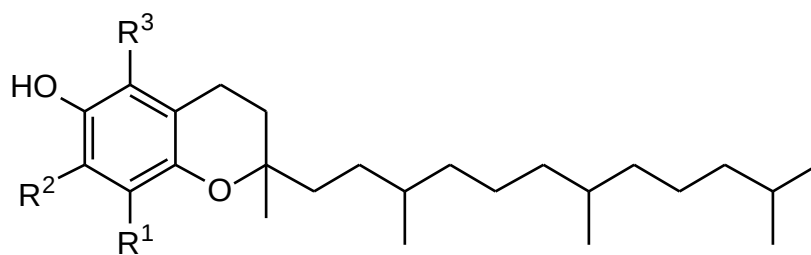
Avec le radical hydroxyle la constante de vitesse varie de 4 à $11 \cdot 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ selon le pH du milieu, le maximum d'activité se situant à pH 7⁴⁸.

Le radical $\text{AH}^\bullet$ est relativement stabilisé (Schéma 1-12) ce qui pourrait expliquer sa faible réactivité. En fait $\text{AH}^\bullet$ dimute rapidement⁴⁸ ($5 \cdot 10^4 < k < 10^8$) en fonction du pH. C'est cette dismutation rapide, en acide ascorbique et en acide déhydroascorbique, tous deux diamagnétiques, qui empêche tout transfert de chaîne.

La monodéhydroascorbate réductase réduit $\text{AH}^\bullet$ à l'aide de la NADH, régénérant la vitamine C. La vitamine C participe aussi à la régénération de la vitamine E (Schéma 1-15).

b. Vitamine E (Tocophérols)

La vitamine E agit comme antioxydant primaire. Du fait de sa forte liposolubilité⁴⁹ elle réagit particulièrement dans les biomembranes⁴⁸. Le tocophérol agit comme donneur d'hydrogène lors de la peroxydation lipidique évitant ainsi toute propagation³².



Tocophérol 15

α -tocophérol : $R^1 = R^2 = R^3 = \text{Me}$

β -tocophérol : $R^1 = R^3 = \text{Me}$; $R^2 = \text{H}$

γ -tocophérol : $R^1 = R^2 = \text{Me}$; $R^3 = \text{H}$

δ -tocophérol : $R^1 = \text{Me}$; $R^2 = R^3 = \text{H}$

Schéma 1-13 : Différents tocophérols³²

Les différents tocophérols n'ont pas les mêmes propriétés antioxydantes : l' α -tocophérol est supérieur au β -tocophérol⁴⁰. Le radical tocophéryle est relativement stable³⁹ (Schéma 1-14)⁴⁸.

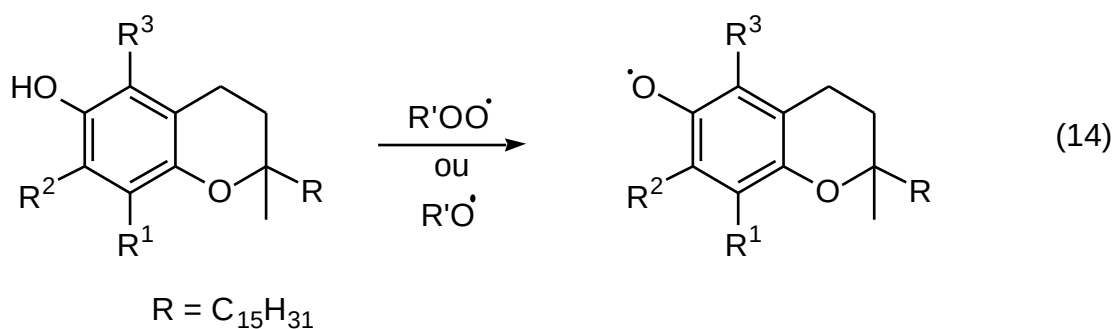


Schéma 1-14 : Réactivité des tocophérols³²

La vitamine E est régénérée par différentes substances (GSH, Vitamine C⁴⁸, ...). La constante de vitesse entre le radical tocophéryle et l'ascorbate est $k = 1,55 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$.

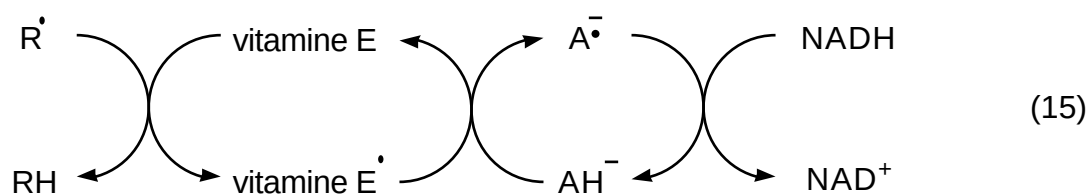


Schéma 1-15 : Régénération de la vitamine E⁴⁸

c. β -Carotène⁴⁰

Les β -carotènes (en fait les caroténoïdes) ont un fort potentiel de protection des tissus lipidiques. L'action de rupture de chaîne du β -carotène est complémentaire de celle de la vitamine E. Alors que le β -carotène est efficace à basse concentration en oxygène, le tocophérol agit à haute concentration. Le β -carotène agit aussi efficacement sur l'oxygène singulet (prevenant les oxydations photochimiques)⁶.

d. Divers

Parmi les autres agents antioxydants, anti-radicalaires et anti-lipoperoxydants, les organismes biologiques ont développé divers types de molécules aux localisations et propriétés différentes : les flavonoïdes (avec les flavones et les flavonols) présents dans les plantes³², la ceruloplasmine protéine à base de cuivre oxydant le Fe^{2+} en Fe^{3+} ⁴⁹, l'acide urique bon "scavenger" du radical hydroxyle $\text{HO}^\bullet$ ³² ...

Leur efficacité dépend de leur concentration dans la zone endommagée et de la nature de l'oxydant.

1.2.3. Peroxydation lipidique accidentelle

Elle se produit lors de l'arrivée de radicaux sur les membranes cellulaires. Elle se termine généralement par la destruction de la cellule. La peroxydation est initiée par les radicaux $\text{HO}^\bullet$ ou hydroperoxyde $\text{HOO}^\bullet$, sur un acide gras polyinsaturé des membranes. Il s'agit d'une réaction radicalaire en chaîne (Schéma 1-16¹), dont nous ne donnons qu'une représentation simplifiée. La constante de vitesse de la réaction d'initiation (arrachement de l'hydrogène par $\text{HO}^\bullet$) est $k = 5.10^8 \text{ M}^{-1}.\text{s}^{-1}$ ²¹.

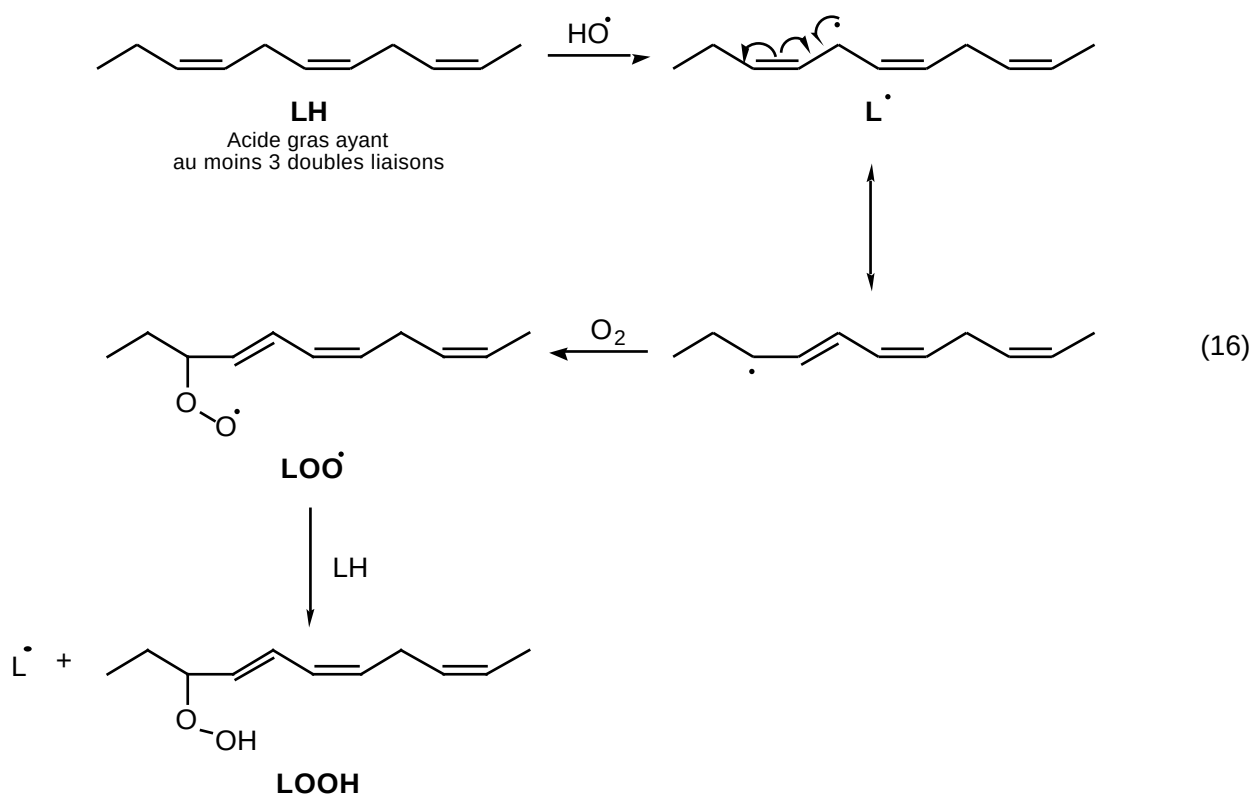


Schéma 1-16 : Peroxydation lipidique

Le composé LOOH peut à nouveau donner un radical LO• ou LOO• dans un cycle proche de celui d'Haber-Weiss⁵⁰ (Schéma 1-17) par lequel se propage la chaîne radicalaire. Ceci est dû aux ions métalliques contenus dans certaines protéines (hémoglobine, méthémoglobine, cytochrome P450, autres cytochromes, etc....)^{21,50}.



Schéma 1-17 : Cycle d'"Haber-Weiss" sur lipide

A cause des ions métalliques endogènes, en fin de fragmentation lipidique on obtient des aldéhydes cytotoxiques¹ notamment le malonaldéhyde (MDA)²⁸. Le MDA réagit rapidement avec des groupements amino libres de composés biologiques comme les acides aminés, les protéines, les acides nucléiques, etc... pour donner un *N,N'*-disubstitué-1-amino-3-iminopropène (bases de Schiff conjuguées) de formule R-NH-C=C-C=N-R ⁵¹.

La chaîne radicalaire peut être interrompue quand le radical $\text{LOO}^\bullet$ réagit avec la vitamine E par un transfert d'hydrogène¹. Ceci a pour conséquence une accumulation d'hydroperoxyde lipidique LOOH à proximité de la membrane, pouvant ainsi favoriser l'initiation de nouvelles chaînes.

La peroxydation lipidique ne se fait pas uniquement sur les membranes cellulaires (dans ce cas il y a rupture de l'architecture de la cellule) mais aussi sur les acides gras polyinsaturés ou sur le cholestérol.

1.3.DETECTION INDIRECTE DES RADICAUX LIBRES

Il existe de nombreux radicaux libres biologiques. Nous nous limiterons dans ce paragraphe à une brève étude des radicaux oxygénés superoxyde et hydroxyle.

Compte tenu de leur grande réactivité et de leur faible durée de vie, leur détection directe n'est pas possible, notamment par des méthodes spectrales (RMN, RPE, IR ...), leur concentration n'étant pas suffisante pour cela. Toutefois ces radicaux peuvent réagir avec une substance test. Les produits obtenus peuvent être parfaitement caractérisés. On peut également employer des inhibiteurs ou des catalyseurs de processus radicalaires.

1.3.1. Radical anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$

Pour le dosage du superoxyde, il existe trois modes d'action possible de l'indicateur : l'oxydation, la réduction ou la fixation. Ces trois modes sont regroupés dans le Tableau 1-2. Toutefois, Rosen⁵² souligne qu'aucune de ces méthodes n'est réellement spécifique de la détection du superoxyde.

Réaction	Indicateur	Produit Obtenu	Détection
	NBT ^a	Formazan	UV-Vis
Réduction	Tétranitrométhane	Radical anion	UV
	Ferricytochrome C	Ferrocyclochrome C	UV-Vis
Oxydation	Epinéphrine	Adénochrome	UV-Vis
	OXANOH ^b	OXANO ^c	RPE
Fixation	Lactoperoxydase	"Composé III"	UV-Vis

Tableau 1-2 : Méthodes de détection du radical superoxyde^{52,53}

^a : nitrobleu tétrazolin (voir formule Réf. 32)

^b : 2-éthyl-1-hydroxy-2,5,5-triméthyl-3-oxazolidine

^c : 2-éthyl-2,5,5-triméthyl-3-oxazolidinoxyle

1.3.2.Radical hydroxyle HO•

De par sa grande réactivité (voir Tableau 1-1), liée à son pouvoir oxydant (§ 0), il peut réagir avec un grand nombre de composés (surtout organiques). Il reste alors à analyser les produits de réaction (Tableau 1-3).

Réactif	Produit(s) détectés(s)	Détection	Réf.
Méthional ^a	Ethylène	Manométrie, CPG	53,54
DMSO ^b	Méthane, éthane, Formaldéhyde	CPG	53,54
Alcool aliphatiques primaires	Formaldéhyde	CPG	54
C ₆ H ₆ - ¹⁴ CO ₂ H	¹⁴ CO ₂	Mesure de la radioactivité	54
DMPO	DMPO-OH	HPLC avec détecteur électrochimique	55
	DMPO-OH ^c	RPE	53

Tableau 1-3 : Méthodes de détection du radical hydroxyle

^a : 3-méthylthiopropionaldéhyde. Mais la réaction n'est pas spécifique et d'autres molécules peuvent donner de l'éthylène.

^b : La réaction de production de CH₄ est plus spécifique que la réaction de production d'éthylène.

^c : Voir plus loin technique du spin-trapping § 1.4.2 p 36.

1.3.3. Peroxydes lipidiques

Là aussi, c'est l'analyse des produits de dégradation qui indique la possibilité d'une peroxydation lipidique : dans certains cas (faisant intervenir l'oxygène singulet) l'origine n'est pas radicalaire, pouvant induire une erreur d'interprétation⁵⁶. Dans le Tableau 1-4, seules les méthodes les plus couramment utilisées sont résumées.

Composés dosés	Technique d'analyse	Condition d'utilisation
Gaz expirés (Méthane, Ethane)	Manométrie ou CPG	<i>in vivo</i>
Hydroperoxydes lipidiques	Iodométrie	<i>in vivo</i>
	GPX / NADH	<i>in vivo</i>
	Chimio luminescence	<i>in vivo</i> et <i>in vitro</i>
Diènes conjugués	HPLC avec détecteur UV	<i>in vivo</i> et <i>in vitro</i>
MDA	Fluorométrie	
	UV	
	Polarographie	<i>in vitro</i>
	HPLC	
	Réaction avec TBA ^a	

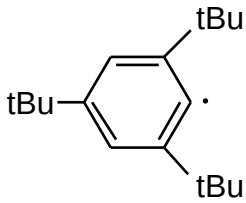
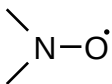
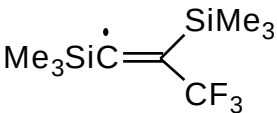
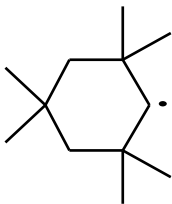
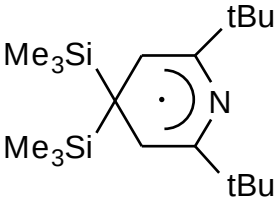
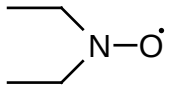
Tableau 1-4 : Principales méthodes de dosage des produits
issus de la peroxydation lipidique^{28,51,56,57}

^a : acide 2-thiobarbiturique

1.4.METHODES DE DETECTION PAR RPE

1.4.1.Différents radicaux

La RPE est une méthode de choix pour la détection et l'identification des radicaux libres. Seuls les radicaux persistants, c'est-à-dire ceux ayant un temps de demi-vie suffisamment long, peuvent être étudiés (Tableau 1-5).

Radicaux	Temps de demi-vie /s	Réf.
	0,1	58
	6	59
	6	58
	20	58
	27	58
	80	59

Temps de demi-vie calculé à 25 °C pour une concentration en radical de 10^{-5} M

Tableau 1-5 : Exemples de temps de demi-vie

de quelques radicaux

C'est le cas notamment des nitroxydes $RR'NO^\bullet$ qui présentent généralement une persistance importante⁶⁰. La structure électronique de ces radicaux est caractérisée par une liaison Π à 3 électrons, l'électron non apparié étant décrit par une orbitale Π^* ⁶¹. Ceci implique qu'à température ambiante ces radicaux existent essentiellement sous forme de monomère (Schéma 1-18). Les dimères peuvent être mis en évidence à basse température -100 à -150 °C⁶².

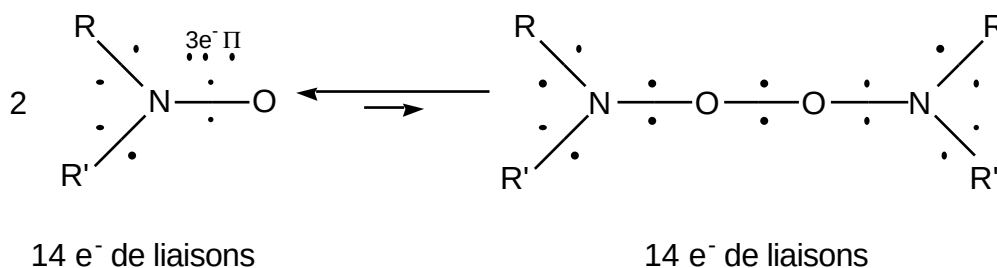


Schéma 1-18 : Dimérisation d'un nitroxyde

Les nitroxydes présentent deux formes mésomères limites représentées par le Schéma 1-19.

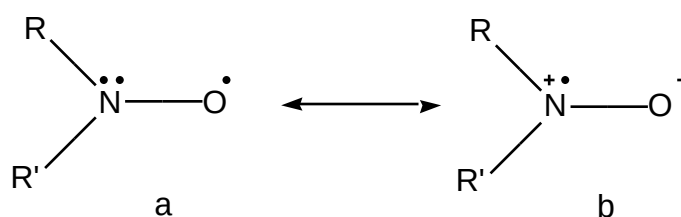


Schéma 1-19 : Formes mésomères des nitroxydes

La stabilité des nitroxydes dépend des groupements R et R'. En particulier si ceux-ci contiennent un hydrogène soit sur l'azote, soit sur le carbone en α de l'azote, ils dismutent pour former une hydroxylamine et une nitrone (Schéma 1-20 Equation (19))⁶³. Certains auteurs proposent un mécanisme passant par des dimères non mis en évidence^{60,62}. L'équation (20) du Schéma 1-20 représente un cas rare où l'hydrogène est porté par l'azote, la dismutation produisant alors une hydroxylamine et un nitroso. Leur stabilité dépend aussi du solvant et de la température.

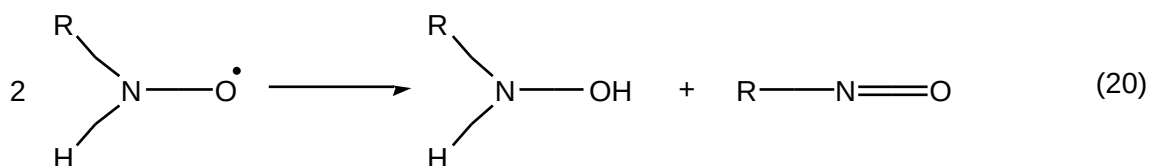
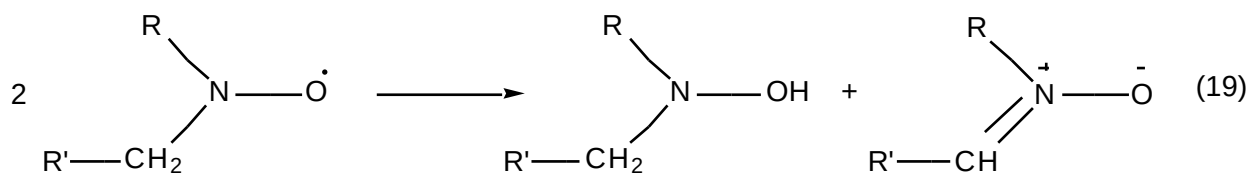


Schéma 1-20 : Réaction de dismutation des nitroxydes

Les nitroxydes ne sont pas les seuls radicaux persistants. Il existe par exemple des radicaux stabilisés par une combinaison d'effets de nature électronique : c'est le cas des radicaux captodatifs⁶⁴. Par exemple le radical ascorbyle est facilement détectable par RPE à température ambiante⁴⁸.

Pour les radicaux non persistants, c'est-à-dire à faible durée de vie, leur observation directe par RPE nécessite l'utilisation de techniques particulières : abaissement de la température⁶⁵, matrice d'adamantane⁶⁶, méthode de l'écoulement continu⁶⁷.

1.4.2. Spin-trapping ou piégeage de spin^{61, 68-75}

La méthode du spin-trapping a été développée pour les radicaux à faible durée de vie. C'est le cas en particulier des radicaux centrés sur l'oxygène (voir Tableau 1-1). De plus à cause d'un trop court temps de relaxation, les radicaux diatomiques ne sont pas observables directement par RPE²⁶. Le principe de la méthode du spin-trapping (ou méthode des nitroxydes) sera exposé plus amplement au chapitre 3.1.1 page 135. Cette méthode consiste en l'utilisation d'une molécule diamagnétique, le piège, qui réagit avec le radical libre pour donner un adduit de spin plus persistant dont l'étude RPE donnera des renseignements sur le radical piégé (Schéma 1-21).

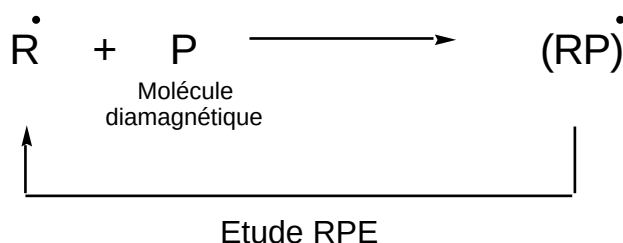


Schéma 1-21 : Schéma du principe de piégeage de spin

De nos jours le spin-trapping a pris une extrême importance aussi bien *in vitro* que *in vivo*. Il existe deux grandes classes de molécules pièges : les nitroso ($\text{R}-\text{N}=\text{O}$) et les

nitrones ($R^1-N^+(O^-)=C-R^2$). Les deux conduisent par adduit de spin à un nitroxyde. Bien que dans les adduits de spin issus des dérivés nitroso le radical piégé soit directement porté par la fonction nitroxyde (Schéma 1-22), les nitroso ont d'énormes inconvénients (cytotoxicité, photosensibilité, etc....) empêchant ainsi leur utilisation en milieu biologique mais surtout les adduits de radicaux centrés sur l'oxygène ne sont pas persistants.

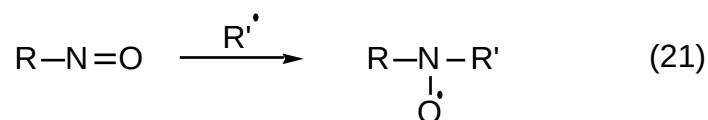


Schéma 1-22 : Piégeage avec un nitroso

Les nitrones ne présentent pas ces inconvénients. Actuellement c'est le 2,2-diméthyl-3,4-dihydro-2*H*-pyrrole-1-oxyde (DMPO) qui est le plus utilisé. Cette nitrone a longtemps été le piège le plus performant pour les radicaux centrés sur l'oxygène⁶⁹. Récemment, une nouvelle nitrone le 2-diéthoxyphosphoryl-2-méthyl-3,4-dihydro-2*H*-pyrrole-1-oxyde (DEPMPO) a été synthétisé au laboratoire SREP^{13,76-79}. Cette nitrone présente de nombreux avantages par rapport à la DMPO, ainsi que nous le reportons dans l'Introduction à la page 6.

1.5. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- (1) Halliwell, B.; Gutteridge, J. M. C. *Trends Neurosci.* **1985**, 8, 22-26.
- (2) Fridovich, I. *Science* **1978**, 201, 875-880.
- (3) Sawyer, D. T. *Oxygen Chemistry*; Oxford University Press: New York Oxford, **1991**, pp 150-151.
- (4) Chanon, M.; Julliard, M.; Santamaria, J.; Chanon, F. *New J. Chem.* **1992**, 16, 169-201.
- (5) Sawyer, D. T. *Oxygen Chemistry*; Oxford University Press: New York Oxford, **1991**, pp 13-29.
- (6) Fontecave, M.; Pierre, J. L. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1991**, 128, 505-520.
- (7) McCord, J. M. In *Therapeutic Approaches to Myocardial Infarct Size Limination*; D. J. Hearse and D. M. Yellow, Ed.; Raven Press: New York, **1984**; pp 209-218.
- (8) McCord, J. M. *Science* **1974**, 185, 529-531.
- (9) Hazlewood, C.; Davies, M. J. *J. Chem. Soc. Perkins Trans. 2* **1995**, 895-901.
- (10) Catterall, H.; Davies, M. J.; Gilbert, B. C.; Polack, N. P. *J. Chem. Soc. Perkins Trans. 2* **1993**, 2039-2047.
- (11) Davies, M. J.; Gilbert, B. C.; Hazlewood, C.; Polack, N. P. *J. Chem. Soc. Perkins Trans. 2* **1995**, 13-21.
- (12) Hiramoto, K.; Johkoh, H.; Sako, K.-I.; Kikugawa, K. *Free Rad. Res. Comms.* **1993**, 19, 323-332.
- (13) Fréjaville, C.; Karoui, H.; Tuccio, B.; Le Moigne, F.; Culcasi, M.; Pietri, S.; Lauricella, R.; Tordo, P. *J. Med. Chem.* **1995**, 38, 258-265.
- (14) McCord, J. M. *N. Eng. J. Med.* **1985**, 312, 159-163.
- (15) Bolli, R. *J. Am. Coll. Cardiol.* **1988**, 12, 239-249.
- (16) Kloner, R. A.; Przyklenk, K.; Whittaker, P. *Circulation* **1989**, 80, 1115-1127.
- (17) Paller, M. S.; Hoidal, J. R.; Ferris, T. F. *Jour. Clin. Invest.* **1984**, 74, 1156-1164.
- (18) Harman, D. *Age* **1983**, 6, 86-94.
- (19) Oberley, L. W.; Buettner, G. R. *Cancer Research* **1979**, 39, 1141-1149.
- (20) Troll, W.; Wiesner, R. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **1985**, 25, 509-528.
- (21) Halliwell, B.; Gutteridge, J. M. C. *Biochem. J.* **1984**, 219, 1-14.
- (22) Jacob, J. L.; d'Auzac, J.; Prevot, J. C.; Serier, J. B. *La Recherche mai* **1995**, 26, 538-545.
- (23) Pryor, W. A. *Ann. Rev. Physiol.* **1986**, 48, 657-667.
- (24) Bielski, B. H. J.; Arudi, R. L.; Sutherland, M. W. *J. Biol. Chem.* **1983**, 258, 4759-4761.
- (25) Rosen, G. M.; Rauckman, E. J. *Methods in Enzymology* **1984**, 105, 198-209.
- (26) Buettner, G. R. *Free Radical Biology & Medicine* **1987**, 3, 259-303.

- (27) Slater, T. F. *Biochem. J.* **1984**, 222, 1-15.
- (28) Bird, R. P.; Draper, H. H. *Methods in Enzymology* **1984**, 105, 299-305.
- (29) Fridovich, I. In *Free Radical in Biology*; W. A. Pryor, Ed.; Academic Press: New York, **1976**; pp 239-277.
- (30) Hess, M. L.; Manson, N. H. *J. Mol. Cell. Cardiol.* **1984**, 16, 969-985.
- (31) Bielski, B. H.; Cabell, D. E.; Arudi, R. L. *J. Phys. Chem. Ref. Data* **1985**, 14, 1041-1100.
- (32) Halliwell, B.; Gutteridge, J. M. C. *Free radicals in Biology and Medicine*; Clarendon Press: Oxford, **1989**.
- (33) Haber, F.; Weiss, J. *Proc. R. Soc. London, Ser. A.* **1934**, 147, 332-351.
- (34) Titus, E. O. *Adv. Exp. med. Biol.* **1983**, 161, 509-518.
- (35) McCord, J. M. *Fed. Proc.* **1987**, 46, 2402-2406.
- (36) Sekili, S.; McCay, P. B.; Li, X.-Y.; Zughaib, M.; Sun, J.-Z.; Tang, L.; Thornby, J. I.; Bolli, R. *Circ. Res.* **1993**, 73, 705-723.
- (37) Kukreja, R. C.; Hess, M. L. *Free Radicals, Cardiovascular Dysfunction and Protection Strategies*; R.G. Landes Company: Austin, **1994**.
- (38) Ferrari, R.; Ceconi, C.; Curello, S.; Guarnieri, C.; Caldarera, C. M.; Albertini, A.; Visioli, O. *J. Mol. Cell. Cardiol.* **1985**, 17, 937-945.
- (39) Kappus, H. In *Oxidative Stress*; H. Sies, Ed.; Academic Press (Harcourt Brace Jovanovich, Publishers): London, Orlando, New York, **1985**; pp 273-310.
- (40) Burton, G. W.; Ingold, K. U. *Science* **1984**, 224, 569-573.
- (41) Pelmont, J. *Enzymes. Catalyseurs du monde vivant*; Presses universitaires de Grenoble: Grenoble, **1995**.
- (42) Sies, H. In *Oxidative Stress*; H. Sies, Ed.; Academic Press (Harcourt Brace Jovanovich, Publishers): London, Orlando, New York, **1985**; pp 1-8.
- (43) Jones, D. P. In *Oxidative Stress*; H. Sies, Ed.; Academic Press (Harcourt Brace Jovanovich, Publishers): London, Orlando, New York, **1985**; pp 151-195.
- (44) Halliwell, B. *Annu. Rev. Nutr.* **1996**, 16, 33-50.
- (45) Halliwell, B.; Aeschbach, R.; Loliger, J.; Aruoma, O. I. *Fd. Chem. Toxic.* **1995**, 7, 601-617.
- (46) Jacob, R. A. *Nutrition Research* **1995**, 15, 755-766.
- (47) Maxwell, S. R. *J. Drugs* **1995**, 49, 345-361.
- (48) Bielski, B. H. In *Ascorbic Acid: Chemistry, Metabolism, and Uses*; P. A. Seib and B. M. Tolbert, Ed.; American Chemical Society: Washington, **1982**; pp 81-100.
- (49) Wills, E. D. In *Oxidative Stress*; H. Sies, Ed.; Academic Press (Harcourt Brace Jovanovich, Publishers): London, Orlando, New York, **1985**; pp 197-218.
- (50) Weiss, S. J. *Acta Physiol. Scand.* **1986**, Suppl. 548, 9-37.

- (51) Dillard, C. J.; Tappel, A. L. *Methods in Enzymology* **1984**, 105, 337-341.
- (52) Rosen, G. M.; Finkelstein, E.; Rauckman, E. *Arch. Biochem. Biophys.* **1982**, 215, 367-378.
- (53) Clifford, D. P.; Repine, J. E. *Methods in Enzymology* **1984**, 105, 393-398.
- (54) Cederbaum, A. I.; Cohen, G. *Methods in Enzymology* **1984**, 105, 516-522.
- (55) Towell, J.; Kalyanaraman, B. *Anal. Biochem.* **1991**, 196, 111-119.
- (56) Slater, T. F. *Methods in Enzymology* **1984**, 105, 283-293.
- (57) Pryor, W. A.; Castle, L. *Methods in Enzymology* **1984**, 105, 293-299.
- (58) Griller, D.; Ingold, K. U. *Acc. Chem. Res.* **1976**, 9, 13-19.
- (59) Karoui, H. *Communication orale* **1997**,
- (60) Keana, J. F. W. *Chem. Rev.* **1978**, 78, 37-64.
- (61) Perkins, M. J. In *Advances in Physical Organic Chemistry*; V. Gold and D. Bethell, Ed.; Academic Press: London, New York, **1980**; Vol. 17; pp 1-64.
- (62) Bowman, D. F.; Gillan, T.; Ingold, K. U. *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, 93, 6555-6561.
- (63) Adamic, K.; Bowman, D. F.; Gillan, T.; Ingold, K. U. *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, 93, 902-908.
- (64) Viehe, H. G.; Janousek, Z.; Merenyi, R.; Stella, L. *Acc. Chem. Res.* **1985**, 18, 148-154.
- (65) Kochi, J. K. In *Advances In Free Radicals Chemistry*; G. H. Williams, Ed.; Academic Press: **1975**; pp 189-317.
- (66) Wood, D. E.; Lloyd, R. V.; Lathan, W. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, 93, 4145-4148.
- (67) Norman, R. O. C. *Electron Spin Resonance Studies of Free Radicals and Their Reactions in Aqueous Solution*; Special publication of the Chemical Society: **1970**; Vol. 24, pp 117-145.
- (68) Anderson Evans, C. *Aldrichima Acta* **1979**, 12, 23-29.
- (69) Janzen, E. G. In *Free Radical in Biology*; W. A. Pryor, Ed.; Academic Press: New York, **1980**; Vol. 4; pp 115-154.
- (70) Finkelstein, E.; Rosen, G. M.; Rauckman, E. J. *Arch. Biochem. Biophys.* **1980**, 200, 1-16.
- (71) Buettner, G. R.; Oberley, L. W. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1978**, 83, 69-74.
- (72) Pou, S.; Hassett, D. J.; Britigan, B. E.; Cohen, M. S.; Rosen, G. M. *Anal. Biochem.* **1989**, 177, 1-6.
- (73) Buettner, G. R.; Mason, R. P. *Methods in Enzymology* **1990**, 186, 127-133.
- (74) Davies, M. J. *Biochimi. Biophys. Acta* **1988**, 964, 28-35.
- (75) Gutteridge, J. M. C.; Beard, A. P. C.; Quinlan, G. J. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1983**, 117, 901-907.
- (76) Fréjaville, C.; Karoui, H.; Tuccio, B.; Le Moigne, F.; Culcasi, M.; Pietri, S.; Lauricella, R.; Tordo, P. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1994**, 1793-1794.

- (77) Tuccio, B.; Lauricella, R.; Fréjaville, C.; Bouteiller, J.-C.; Tordo, P. *J. Chem. Soc. Perkins Trans. 2* **1995**, 295-298.
- (78) Fréjaville, C.; Karoui, H.; Le Moigne, F.; Culcasi, M.; Pietri, S.; Tordo, P. *Brevet français* **1993**, N° PV 9308906, 20 juillet.
- (79) Barbati, S.; Clément, J. L.; Olive, G.; Roubaud, V.; Tuccio, B.; Tordo, P. In *Free Radicals in Biology and Environment*; F. Minisci, Ed.; Kluwer Academic Publishers: Dordrecht / Boston / London, **1997**; Vol. 27 - 3. High Technology; pp 39-47.

2. SYNTHÈSE DES NITRONES

Tout le monde savait que c'était impossible. Il est venu un
imbécile qui ne le savait pas et qui l'a fait.
(Marcel Pagnol)

2.1.INTRODUCTION

En synthèse organique, les nitrones ont une grande importance vu le nombre élevé de réactions auxquelles elles participent (Voir exemple Torsell p 79 - 85¹). Les principales méthodes de synthèse des nitrones sont répertoriées dans l'ouvrage de Torsell¹. Essentiellement, on trouve cinq grandes méthodes, il en existe d'autres d'un intérêt plus limité (Torsell¹, p 92, réf.146 - 156).

2.1.1.Condensation d'une hydroxylamine N-monosubstituée sur un dérivé carbonyle

Les aldéhydes ou cétones sont en général aisément accessibles en synthèse organique. L'utilisation du couple carbonyle / hydroxylamine est facile à mettre en oeuvre et conduit en principe à de bons rendements.

Les aldéhydes réagissent rapidement et quantitativement à température ambiante avec des hydroxylamines monosubstituées, alors que les cétones ou acétals requièrent un chauffage de plusieurs heures. Les nitrones cycliques sont préférentiellement préparées par réduction de composés carbonylés - nitro substitués en présence de zinc ($\text{Zn} / \text{NH}_4\text{Cl}$ ² ou Zn / AcOH ³ : dans les deux exemples cités le rendement en nitrone est de 60 %) (Schéma 2-1).

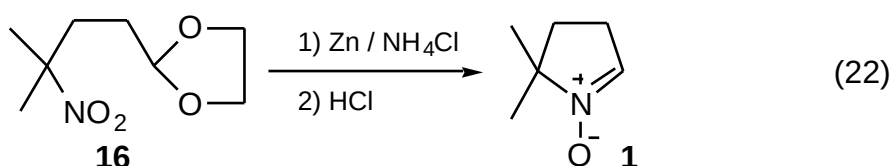


Schéma 2-1 : Synthèse de laDMPO

Les nitrones acycliques sont obtenues directement en mettant en présence une hydroxylamine et un aldéhyde⁴ (Schéma 2-2).

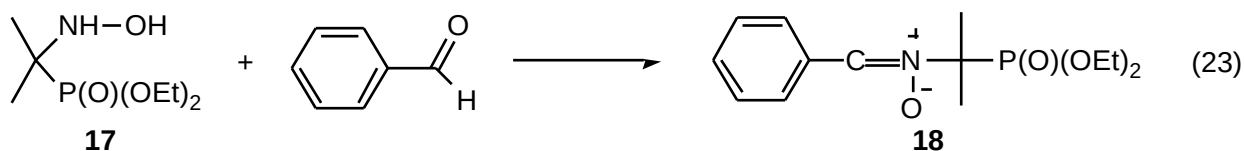


Schéma 2-2 : Synthèse de la PPN

2.1.2. Oxydation des hydroxylamines *N,N*-disubstituées

Pour oxyder des hydroxylamines en nitrones ou en nitroxydes, on peut utiliser de nombreux oxydants dont certains sont des oxydants courants. Souvent le barbotage d'air (ou bien d'oxygène) à travers une solution d'hydroxylamine et d'un catalyseur (par exemple le complexe cuivre-ammoniacal) suffit⁵. D'autres oxydants peuvent être employés comme le *tert*-butylhydroperoxyde, le palladium⁶. Le Schéma 2-3 représente cette oxydation⁷. Toutefois, on constate que la réaction (25) s'effectue, même quand un des substituants R^1 , R^2 , R^3 ou R^4 est un hydrogène. Par dismutation du nitroxyde on obtient alors la nitrone et l'hydroxylamine qui se trouve de nouveau oxydée par l'excès d'oxydant.

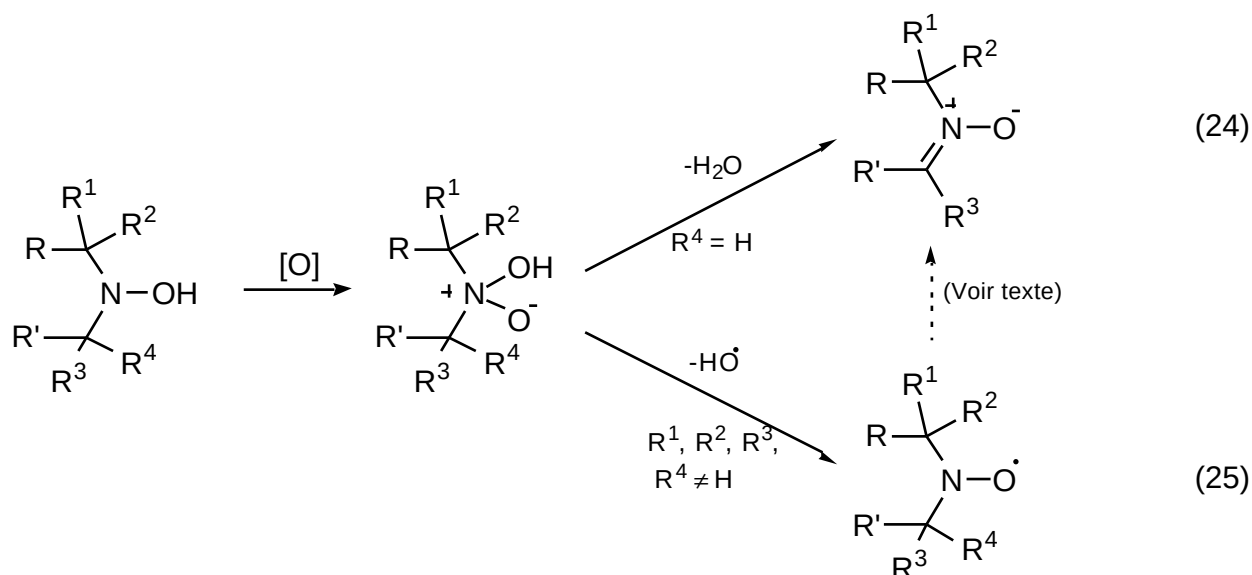


Schéma 2-3 : Oxydation d'hydroxylamine

Les amines secondaires peuvent être oxydées par un grand nombre d'oxydants (H_2O_2 ⁸, H_2O_2 -catalyseur⁹⁻¹¹, *m*-CPBA¹², 2-phénylsulfonyl-3-phényloxaziridine ou "réactif de Davis"¹³, diméthyldioxyrane¹⁴, ...). Le mécanisme par l'eau oxygénée rapporté par Murashi⁸ (Schéma 2-31), met en évidence une hydroxylamine intermédiaire, laquelle est oxydée en nitrone *via* une *N*-hydroxylamine *N*-oxyde.

2.1.3. *N*-alkylation d'oximes

L'alkylation d'oximes par les halogénures d'alkyle conduit à un mélange de nitrones et de produits de *O*-alkylation. Le contre-ion, par exemple Li^+ , Na^+ , ..., et l'agent alkylant ont moins d'influence sur la régiosélectivité de la réaction que la nature de l'oxime : les aldoximes favorisent la formation de nitrones ; les cétoximes, pour des raisons stériques, favorisent la *O*-alkylation (Schéma 2-4). Ce problème peut être contourné en transformant les cétoximes tout d'abord en *O*-triméthylsililoximes, puis en les *N*-alkylant facilement en nitrones avec du tétrafluoroborate de trialkyloxonium.

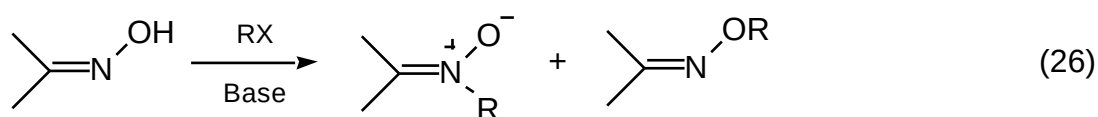
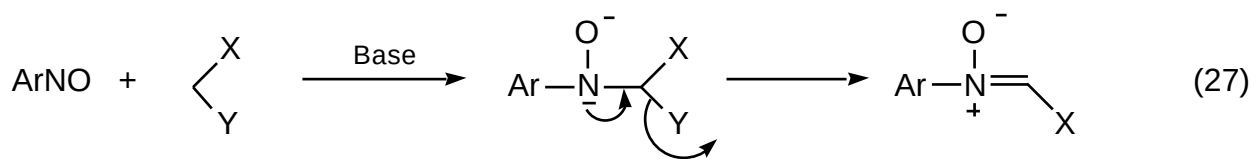


Schéma 2-4 : *N*-alkylation d'oxime

2.1.4. Réaction de dérivés nitroso-aromatiques avec des méthylènes activés : réaction de Kröhnke

La réaction de Kröhnke est limitée à la préparation de *N*-arylnitrones et nécessite en principe un méthylène (occasionnellement un méthyne ou un méthyle) possédant un bon groupement partant (Schéma 2-5).



X : groupe activant : aryle, CN, RCO

Y : groupe partant : halogène, sulfonium, ...

Schéma 2-5 : Réaction de Kröhnke

2.1.5. *N*-oxydation d'imines

L'oxydation d'une fonction imine, qu'elle fasse partie d'un cycle hétéroaromatique ou d'un groupe C=N isolé, est menée à terme par des peracides. Dans de rares cas l'eau oxygénée ou d'autres réactifs ont été utilisés. Les imines *N*-hétéroaromatiques donnent directement les dérivés *N*-oxyde (c'est-à-dire les nitrones), alors que les imines ou les bases de Schiff's donnent initialement des oxaziridines, qui sous des conditions thermiques contrôlées se réarrangent en nitrones (Schéma 2-6).

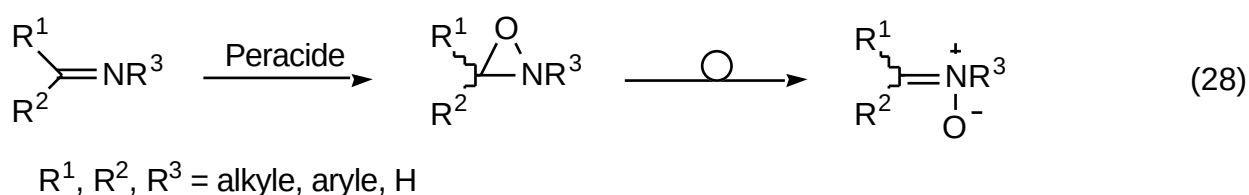


Schéma 2-6 : Oxydation d'imine

En conclusion à cette introduction deux voies ont retenu notre attention. L'une passe par l'addition d'une hydroxylamine (*via* la réduction d'un dérivé nitré) sur un carbonyle. L'autre consiste en l'oxydation d'une amine secondaire.

2.2.SYNTHESE DU 2- (DIETHOXYPHOSPHORYLMETHYL)-2- METHYL-3,4-DIHYDRO-2H-PYRROLE-1- OXYDE (ESPACEUR OU ESP) 3

2.2.1.Etude bibliographique de la synthèse de 3

Parmi les nombreuses voies envisagées et testées, nous décrivons ici seulement les trois voies que nous avons le plus développées. Le schéma rétrosynthétique de ces voies est présenté ci-après (Schéma 2-7). Les autres voies envisagées ou partiellement explorées se trouvent en annexe p 259.

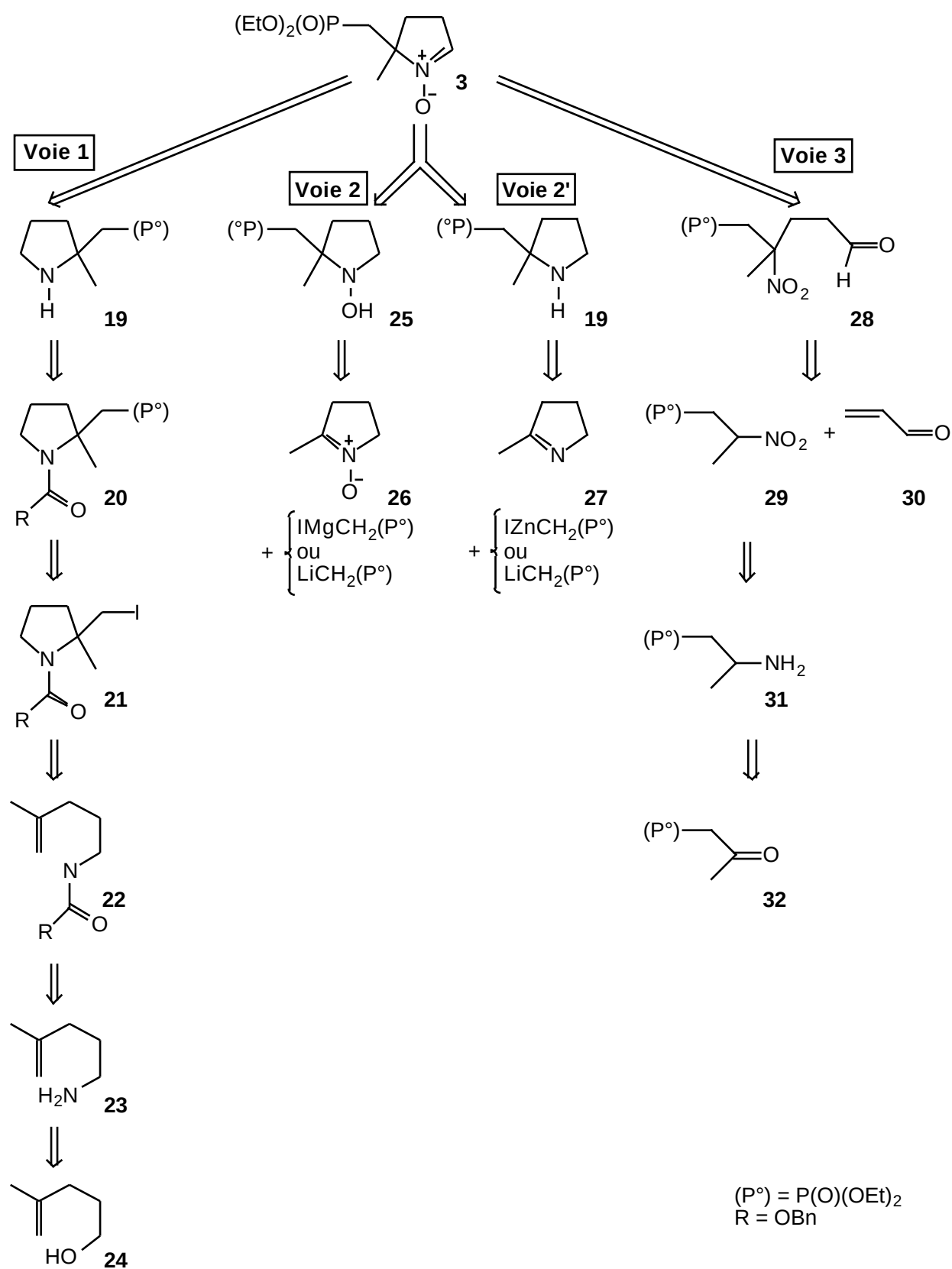


Schéma 2-7 : Schéma rétrosynthétique du 2-(diéthoxyphosphorylméthyl)-2-méthyl-3,4-dihydro-2H-pyrrole-1-oxyde **3**

2.2.1.1. Via la réaction d'Arbuzov (Voie n°1)

a. 4-méthylpent-4-én-1-ol **24**

Dans la littérature, trois voies de synthèse principales sont décrites :

◆ Par addition du magnésien du 3-bromo-2-méthylprop-1-ène sur l'oxyde d'éthylène¹⁵

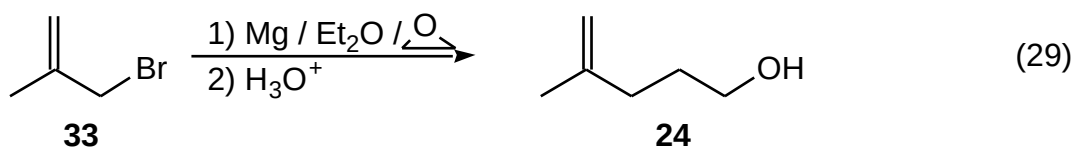


Schéma 2-8 : Addition du 3-bromo-2-méthylprop-1-ène magnésien sur l'oxyde d'éthylène

◆ Par réduction du 4-méthylpent-4-énoate d'éthyle

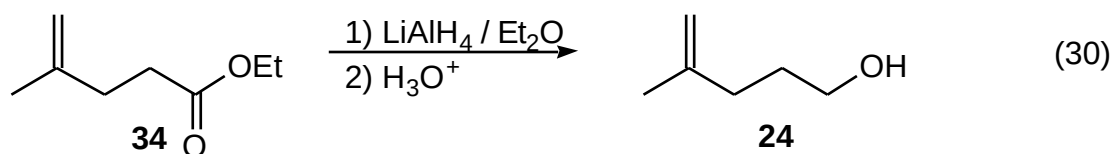


Schéma 2-9 : Réduction du 4-méthylpent-4-énoate d'éthyle

Cependant, le précurseur utilisé dans ce cas présente un coût élevé, difficilement acceptable à ce stade du schéma de synthèse^{16,17}.

◆ Via l'action d'un réactif de Wittig sur le 5-hydroxypenta-2-one¹⁸

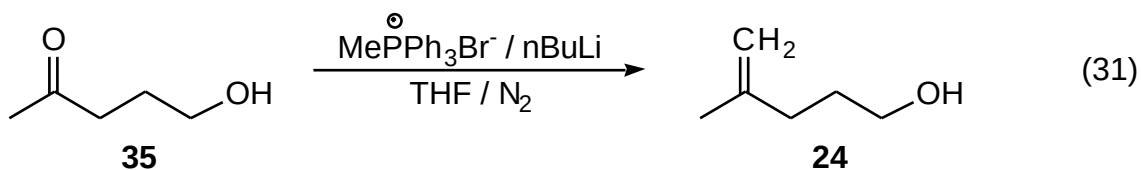


Schéma 2-10 : Réaction de Wittig

◆ *Par réduction de l'hydropyrane*

Zhou¹⁶ propose la réaction suivante : (Schéma 2-11)

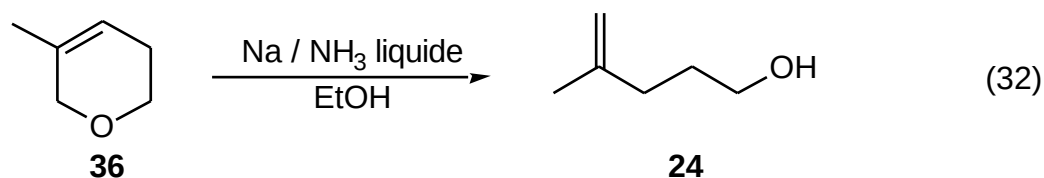


Schéma 2-11 : Réduction de l'hydropyrane

b. 4-méthylpent-4-én-1-amine **23**

Anastasiou reporte la synthèse de **23** dans les conditions d'Hégédus¹⁹ qui utilise une modification de la procédure de Mitsunobu (Schéma 2-12).

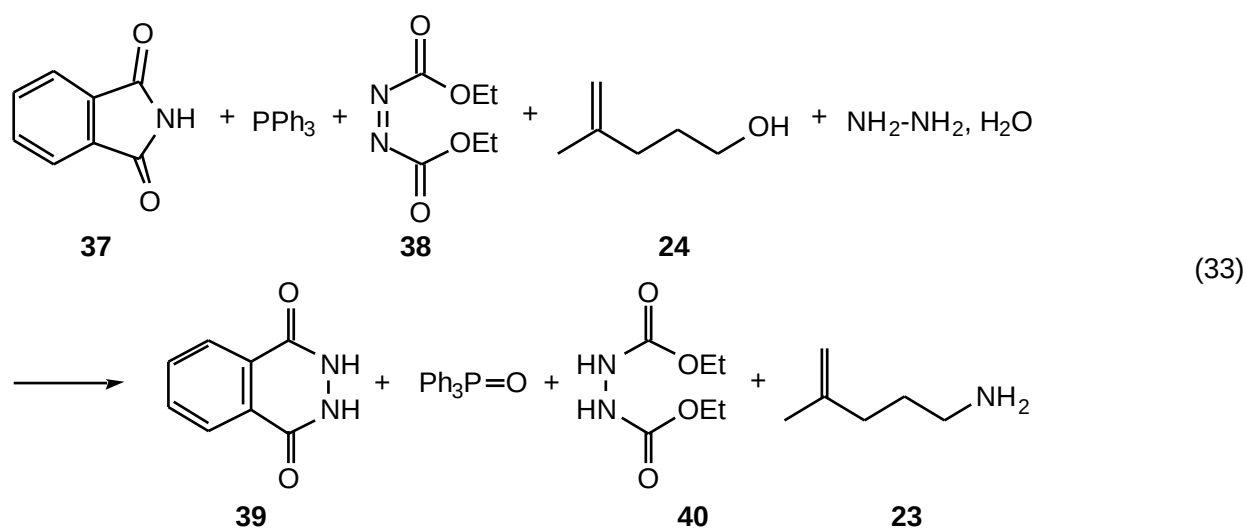


Schéma 2-12 : Réaction de Mitsunobu modifiée

La formation de **23** dans ces conditions peut s'expliquer de la manière suivante²⁰ : (Schéma 2-13)

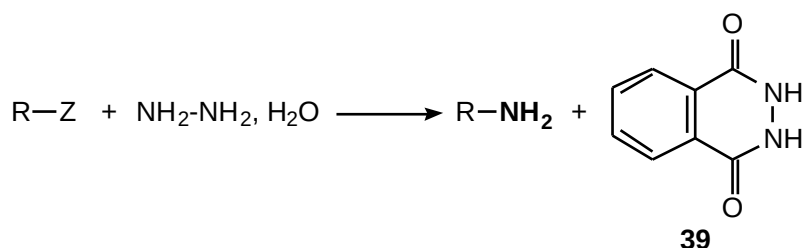
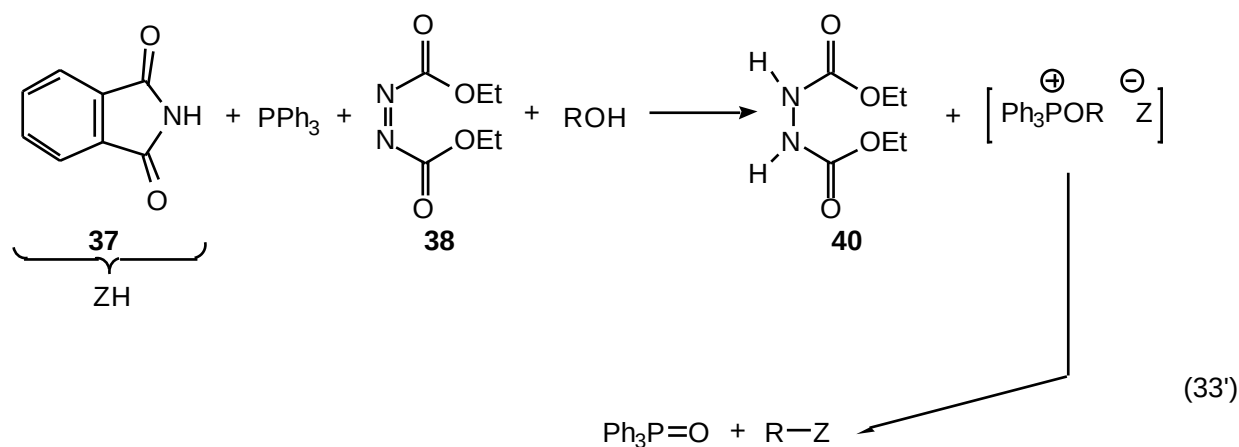


Schéma 2-13 : Mécanisme de la réaction de Mitsunobu

c. Protection de la fonction amine

De très nombreuses protections de la fonction amine ont été rapportées dans la littérature²¹. Nous nous limiterons ici aux principales protections compatibles avec notre schéma de synthèse ; en effet, dans notre cas le groupement protecteur de l'amine doit être choisi de façon à permettre la cyclisation sur la double liaison, mais prévenir l'attaque nucléophile de l'azote sur le carbone électrophile formé au cours de cette étape (Schéma 2-14). Par ailleurs, l'amine protégée ne doit pas réagir lors de l'étape de phosphorylation et sa déprotection doit respecter la fonction phosphonate introduite.

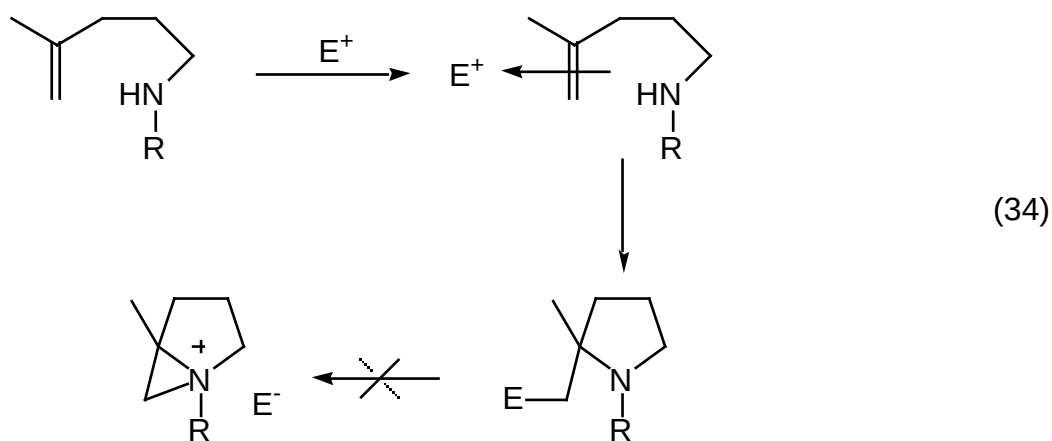


Schéma 2-14 : Schéma général de cyclisation d'amine

◆ *Protection sous forme de carbamate*

* *Sous forme de carbamate de méthyle*

Harding²² décrit de nombreuses cyclisations de *N*-alc-3-énylcarbamate d'alkyle, notamment de carbamates de méthyle (Schéma 2-15).

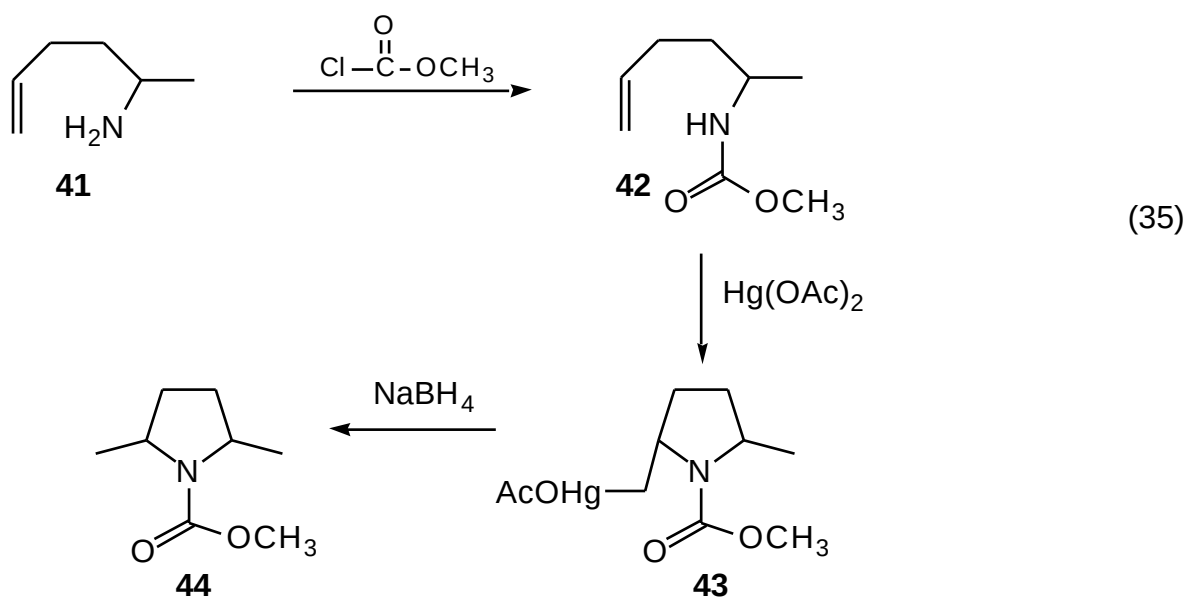


Schéma 2-15 : Protection par méthoxycarbonyl

La déprotection s'effectue soit en milieu acide²² (HCl , AcOH), soit en milieu basique (10 % KOH , MeOH / H_2O)^{21,23}.

* *Sous forme de carbamate de benzyle*

Les carbamates de benzyle sont fréquemment utilisés dans les réactions de cyclisation des δ -alcénylamines^{22,24} (Schéma 2-16).

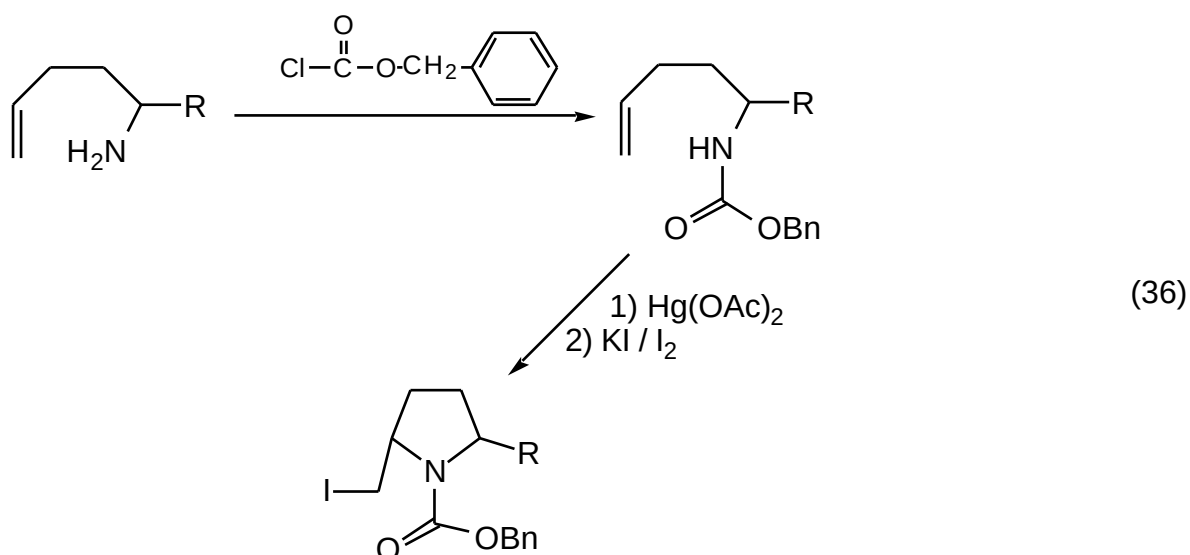


Schéma 2-16 : Protection sous forme de carbamate de benzyle

Différents modes de déprotection sont décrits dont : (Schéma 2-17 et Schéma 2-18)

– *déprotection en milieu acide*

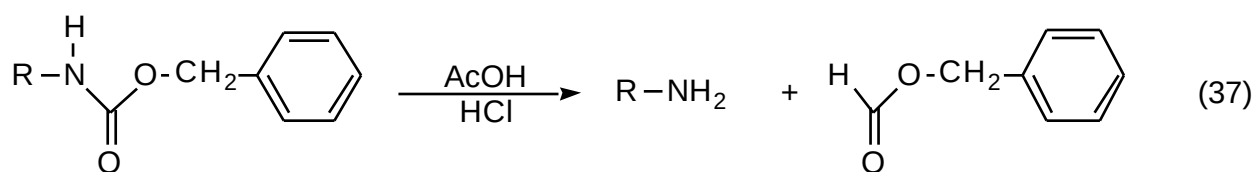


Schéma 2-17 : Déprotection d'amine en milieu acide

– *déprotection par hydrogénation catalytique²¹*

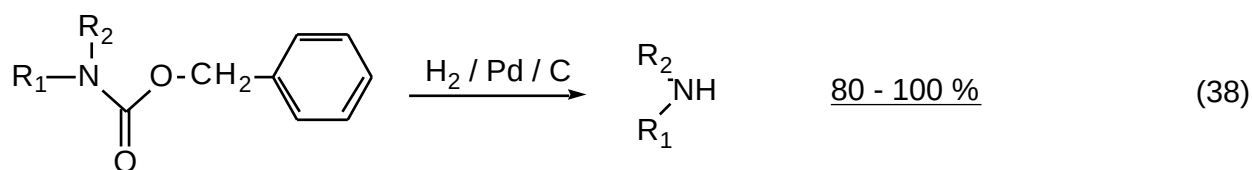


Schéma 2-18 : Déprotection d'amine par hydrogénation catalytique

◆ *Protection sous forme de tosylate*²¹

La réaction (Schéma 2-19) est analogue à celle décrite au § _ :

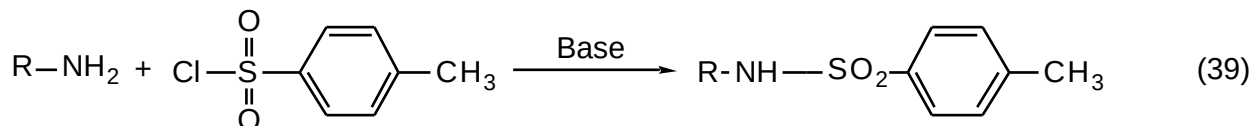


Schéma 2-19 : Protection par le groupement tosylé

De nombreuses méthodes de déprotection sont décrites, notamment en milieu acide (HBr , AcOH , 70 °C)²⁵.

d. Hydrolyse des phosphonates de dialkyle

Les fonctions ester des groupements phosphonates peuvent être hydrolysées en milieu acide ou basique (monohydrolyse). Nous ne citons ici que les méthodes d'hydrolyse compatibles avec notre schéma de synthèse. L'action de l'iodure de sodium dans l'acétone conduit à l'alkylphosphonate de méthyle et de sodium. La transestérification par l'iodure de triméthylsilile suivie d'une hydrolyse conduit aux acides phosphoniques.

◆ *En milieu acide*

Deux types de conditions sont généralement utilisés^{26,27} (Schéma 2-20).

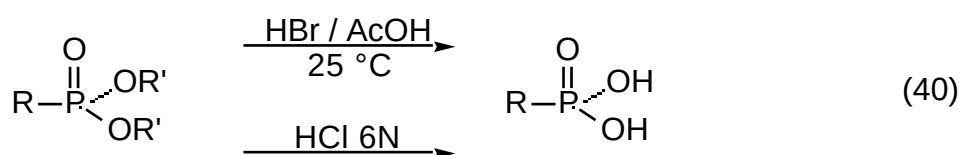


Schéma 2-20 : Hydrolyse des fonctions ester de groupements phosphonates en milieu acide

◆ *En milieu basique*

L'hydrolyse des phosphonates conduit à l'obtention de monoacides²⁸ (Schéma 2-21).

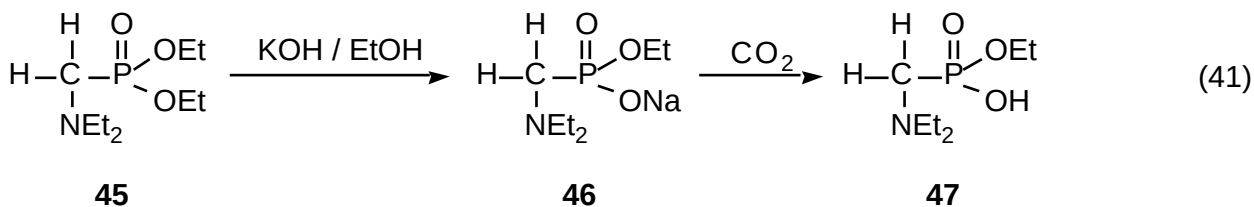


Schéma 2-21 : Hydrolyse des fonctions ester de groupements phosphonates en milieu basique

e. Cyclisation des δ -alcénylamines

L'activation par un agent électrophile de la double liaison des alcénylamines permet d'effectuer des réactions de cyclisation de ces composés.

Dans le cas des δ -alcénylamines, on observe préférentiellement la formation de pyrrolidines, résultant de la cyclisation 5-exo (Schéma 2-22).

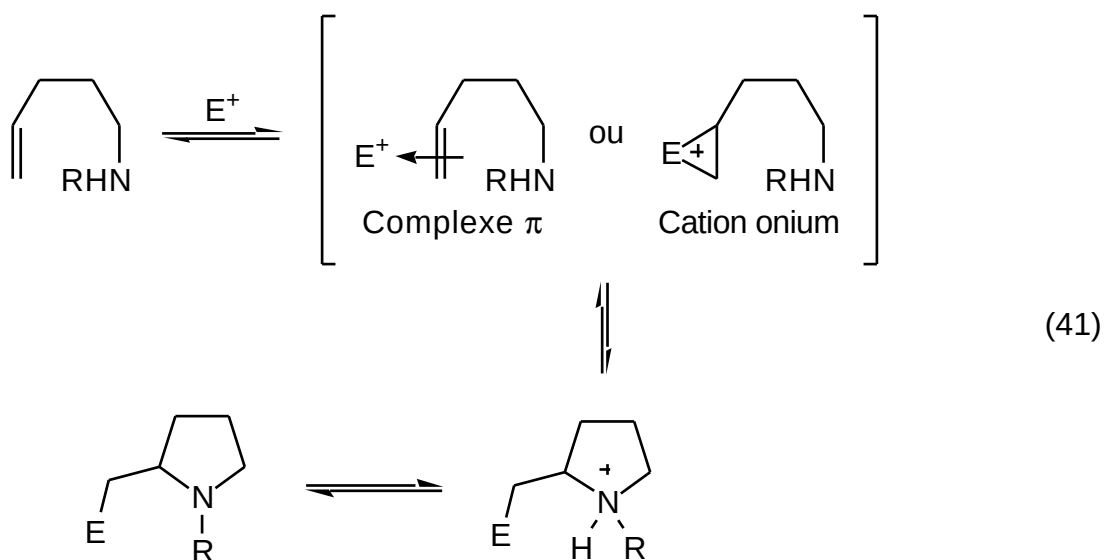


Schéma 2-22 : Cyclisation des δ -alcénylamines

On peut distinguer ces réactions en fonction de l'électrophile employé : ions haloniums, ions sélénéniums, cations métalliques (XHg^+), métaux de transition^{29,30}.

Deux méthodes sont particulièrement intéressantes dans notre cas, car elles permettent d'introduire simultanément l'halogène sur le méthylène en α du cycle pyrrolidinique.

◆ *Cyclisation induite par des ions halonium*

L'halogène le plus fréquemment utilisé pour la cyclisation d'amines ou amides éthyléniques en hétérocycles azotés est l'iode³⁰⁻³³.

Différentes protections de l'amine sont utilisables.

* *N*-alkoxyamines³¹

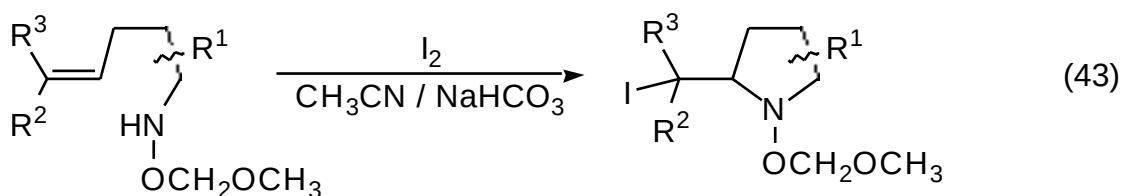


Schéma 2-23 : Cyclisation de *N*-alkoxyamines

* Carbamates³³

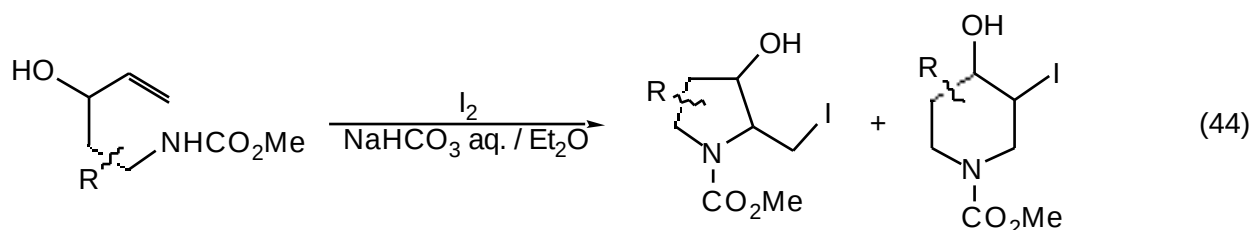


Schéma 2-24 : Cyclisation de carbamates

* Tosylates³³

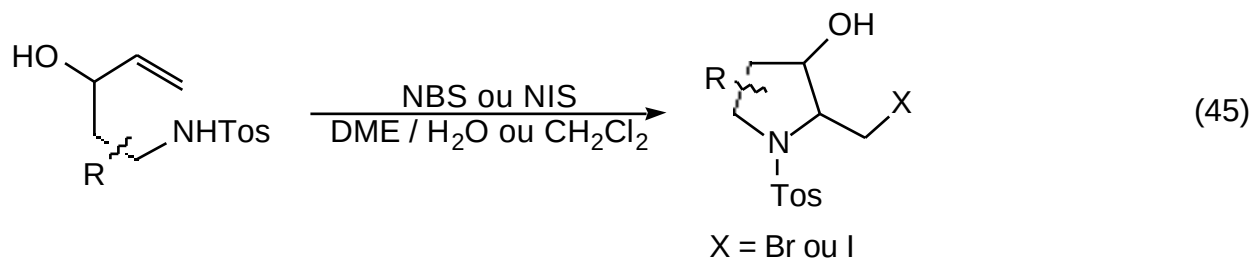


Schéma 2-25 : Cyclisation de tosylates

◆ *Cyclisation induite par les ions mercurinium : amido-mercuration*

Harding^{22,24} décrit la cyclisation par amido-mercuration de δ -alcénylamine (Schéma 2-26).

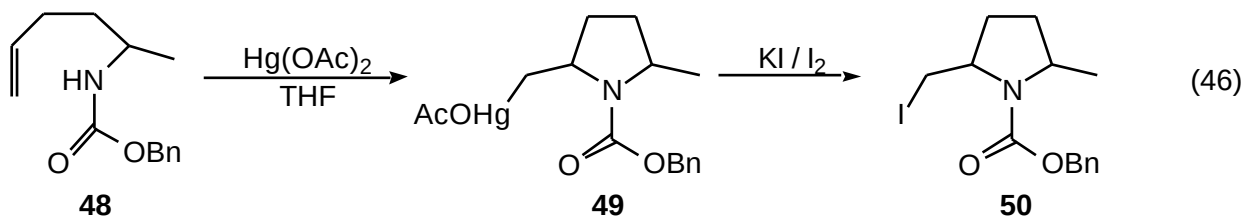
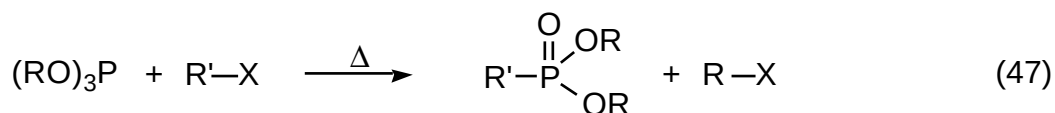


Schéma 2-26 : Amido-mercuration

f. Création d'une liaison carbone-phosphore à partir d'un halogénure

◆ *Réaction d'Arbuzov*

La réaction de Michaelis-Arbuzov est une voie générale très largement décrite, permettant la création de liaison carbone-phosphore par action d'un phosphate de trialkyle sur un halogénure d'alkyle ou d'acyle³⁴ (Schéma 2-27).



R = Alkyle, aryle
R' = Alkyle, acyle
X = Cl, Br, I

Schéma 2-27 : Réaction d'Arbuzov

Le mécanisme généralement admis est le suivant : (Schéma 2-28)

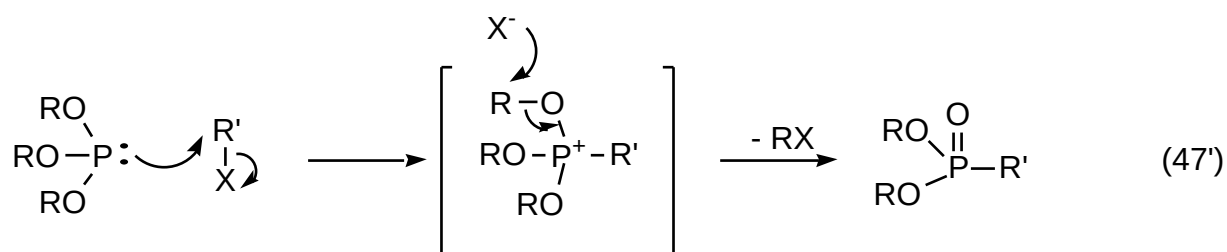


Schéma 2-28 : Mécanisme de la réaction d'Arbuzov

◆ *Réaction de Michaelis-Becker*

A partir d'un halogénure, on peut également introduire un groupement dialkoxyphosphoryle par action d'un sel métallique de dialkylphosphonate³⁵ (Schéma 2-29).

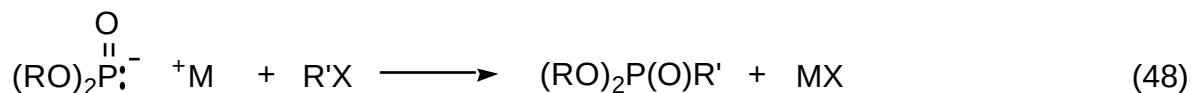


Schéma 2-29 : Réaction de Michaelis-Becker

◆ *Réaction inverse de Michaelis-Becker*

Dans un brevet Japonais³⁶, les auteurs font le magnésien d'un halogénure d'alkyle et le font réagir sur un chlorophosphite de diéthyle.

g. Oxydation

Shun-Ichi Murahashi et Tatsuky Shiota effectuent l'oxydation suivante⁹ : (Schéma 2-30)

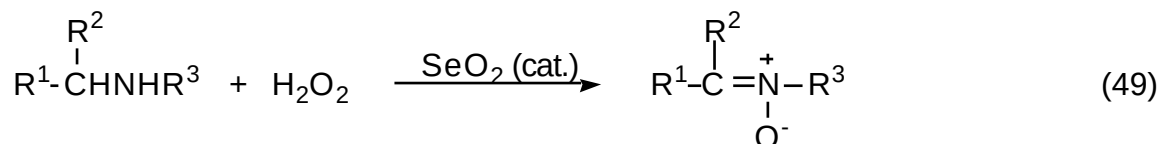


Schéma 2-30 : Oxydation par l'eau oxygénée

La réaction s'effectue dans l'acétone et à partir de la pyrrolidine le rendement en nitrone est de 73 %. Ces auteurs proposent le mécanisme suivant : (Schéma 2-31)

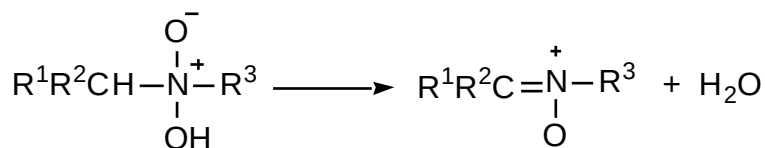
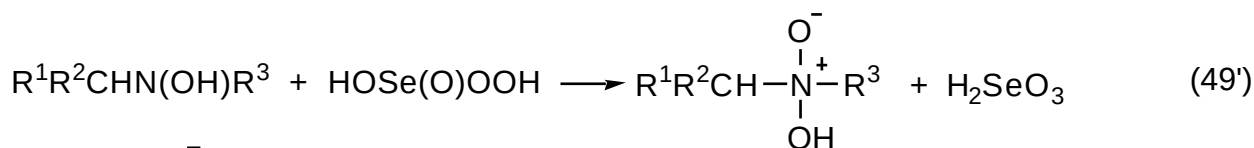
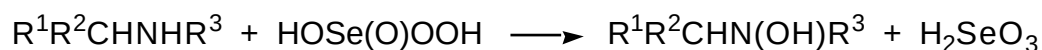
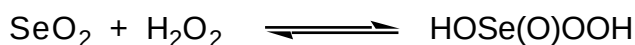


Schéma 2-31 : Mécanisme d'oxydation par l'eau oxygénée

Dans une autre publication de 1990, Shun-Ichi Murahashi utilise l'eau oxygénée en présence d'un autre catalyseur, le tungstate de sodium^{10,11}. Mais dans ces conditions, l'oxydation de la pyrrolidine donne un rendement plus faible (44 %).

Fréjaville effectue l'oxydation du (2-méthyl-2-pyrrolidiny)phosphonate de diéthyle **50** avec deux équivalents d'acide *métachloroperbenzoïque* (*m*-CPBA) et obtient la nitrone DEPMPO avec 20 % de rendement¹² (Schéma 2-32).

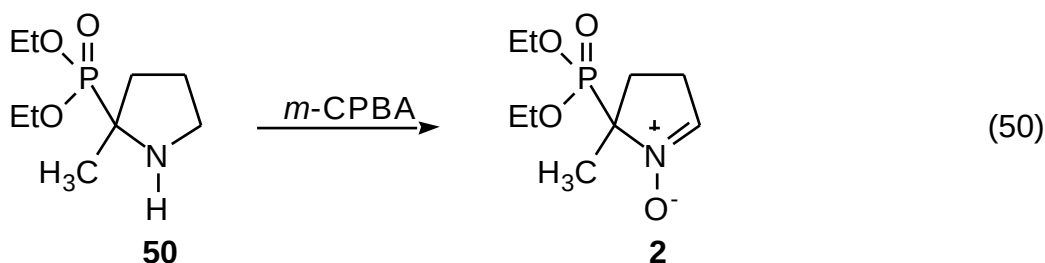


Schéma 2-32 : Oxydation par le *m*-CPBA

Il existe de nombreuses autres publications sur ce sujet. Les citer toutes dépasse le cadre de cette thèse.

2.2.1.2. Via l'addition d'un organométallique (Voie n°2 et 2')

a. Voie 2 (Réaction sur nitron)

Cette voie s'effectue à partir de la 5-méthyl-3,4-dihydro-2H-pyrrole-1-oxyle, par addition du magnésien du bromométhylphosphonate de diéthyle, suivie d'une oxydation (Schéma 2-33).

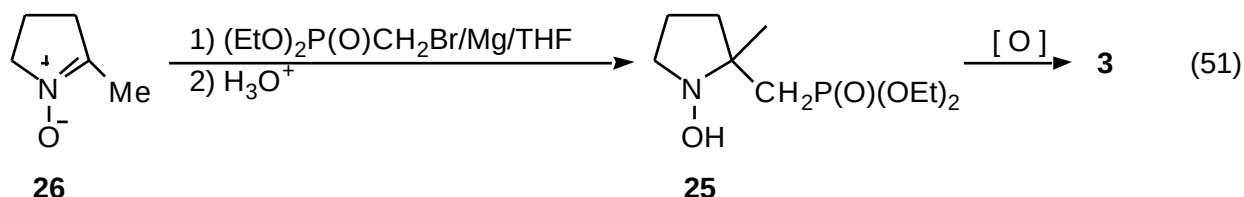


Schéma 2-33 : Réaction entre une nitron et un organomagnésien

La synthèse de la 5-méthyl-3,4-dihydro-2H-pyrrole-1-oxyle **26**, non commerciale, est décrite dans la littérature³⁷. Des essais préliminaires, selon ce schéma de synthèse, ont été conduits au laboratoire par Stipa³⁸. Cependant, les produits formés lors de l'addition du réactif de Grignard n'ont pas pu être isolés. Toutefois un signal RPE pouvant correspondre au nitroxyde phosphoré attendu a pu être observé. Stipa a également employé des dérivés lithiés (modification de Coutrot³⁹) (Schéma 2-34).

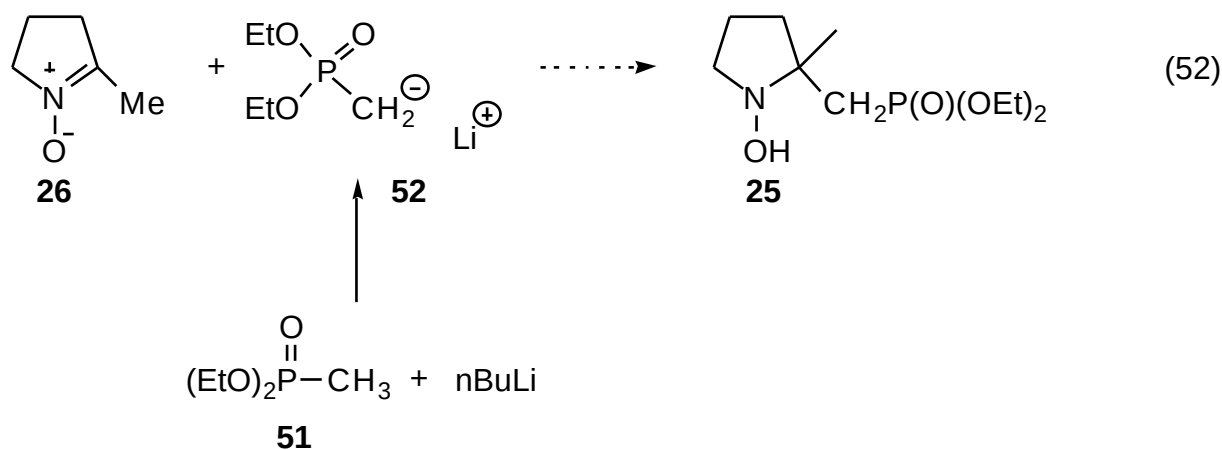


Schéma 2-34 : Réaction entre une nitron et un organolithien

Malheureusement, dans ce cas, la molécule cible n'a pu être identifiée. Nous avons donc écarté cette voie d'accès.

b. Voie 2' (Réaction sur imine)

Elle fait intervenir la réaction de Reformatsky. On trouve dans la littérature⁴⁰⁻⁴⁸ la réaction d'un organozincique en α d'un dérivé d'acide (ester, amide, ...) avec une imine ou base de Schiff, la réaction s'effectuant dans le méthylal (diméthoxyméthane) (Schéma 2-35).

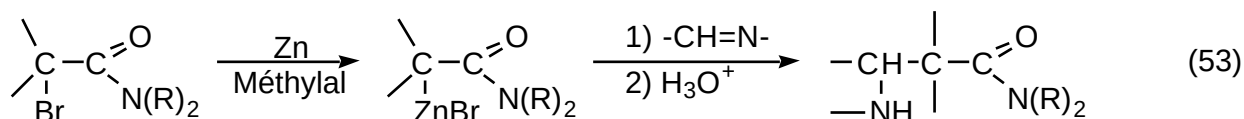


Schéma 2-35 : Réaction de Reformatsky

Huet a effectué une étude très poussée de l'addition d'un organolithien sur une imine⁴⁹⁻⁵². Il analyse l'influence de l'imine et du lithien (Schéma 2-36).

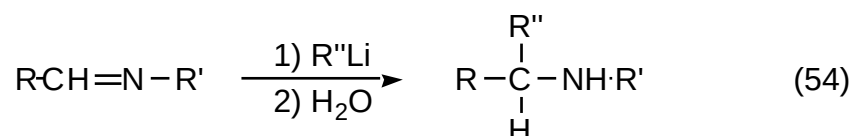
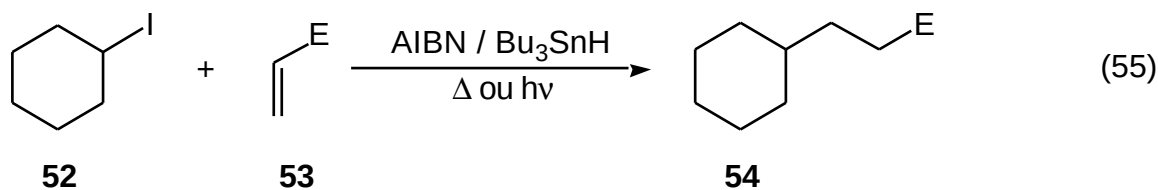


Schéma 2-36 : Réaction entre une imine et un organolithien

Curran⁵³ a étudié l'addition de radicaux libres sur doubles liaisons (Schéma 2-37). On peut donc envisager d'étendre cette réaction à l'addition sur imine. Ce type de réaction est déjà connu en mode intramoléculaire⁵⁴. Il se peut donc que le Schéma 2-38 soit applicable.



E = -C(O)R, -CO₂R, -CN, etc.
AIBN = azobisisobutyronitrile

Schéma 2-37 : Addition d'un radical, généré par le système au tributylétain, sur une double liaison

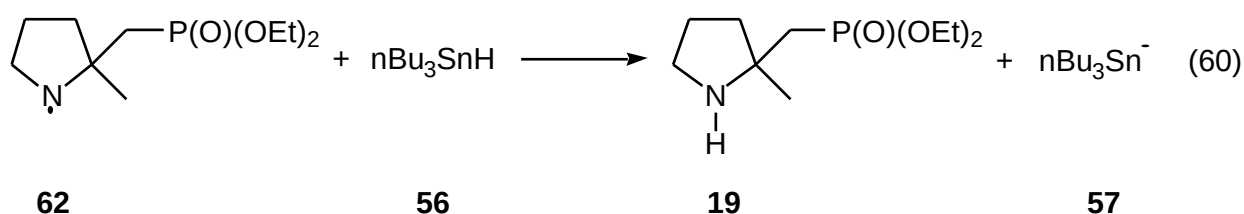
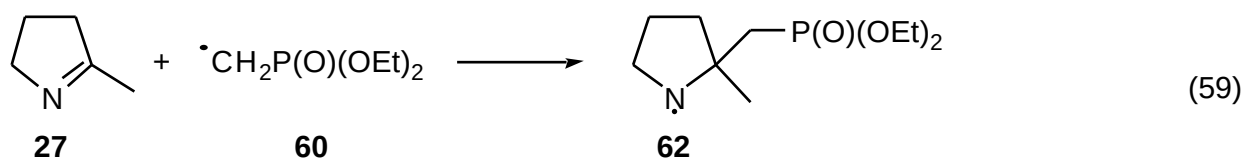
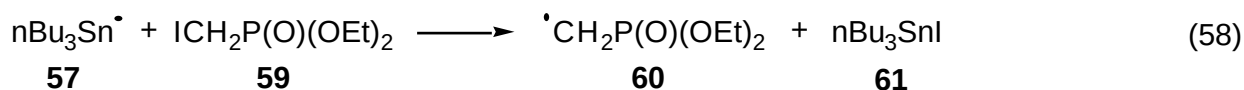
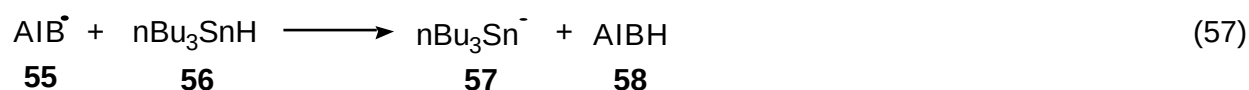


Schéma 2-38 : Réaction intermoléculaire d'un radical sur imine

2.2.1.3. Via la réduction d'un groupement nitro (Voie n°3)

Ce travail a été effectué en collaboration avec V. Roubaud et a fait l'objet de deux publications^{55,56}.

Nous avons alors opté pour une voie plus classique mais plus longue, faisant appel à des réactions bien maîtrisées au laboratoire. Le schéma de synthèse retenu est le suivant : (Schéma 2-39)

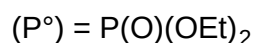
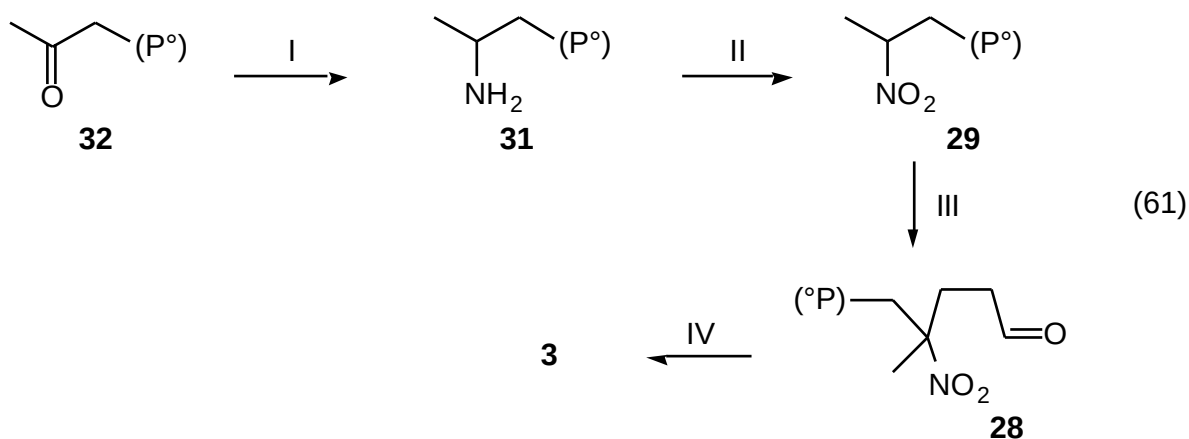


Schéma 2-39 : Schéma de synthèse *via* la réduction d'un groupement nitro

a. Synthèse du 2-nitropropylphosphonate de diéthyle **29** (Schéma 2-39, étapes I et II)

Elle fait appel dans un premier temps à une amination réductrice d'un carbonyle, selon la méthode de Savignac⁵⁷, suivie d'une oxydation de l'amine ainsi obtenue⁵⁸ (Schéma 2-40).

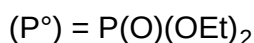
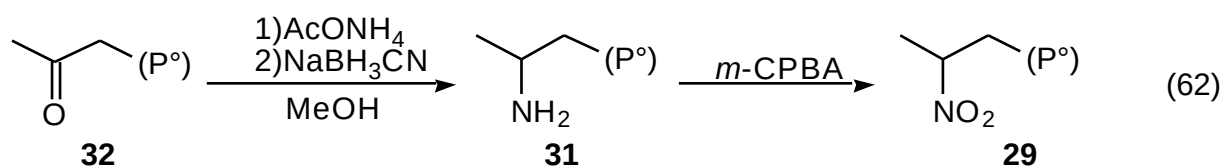


Schéma 2-40 : Synthèse du 2-nitropropylphosphonate de diéthyle **29**

Zòn⁵⁹ utilise l'oxydation d'une oxime, là aussi partant d'un dérivé carbonylé (Schéma 2-41).

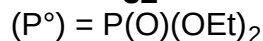
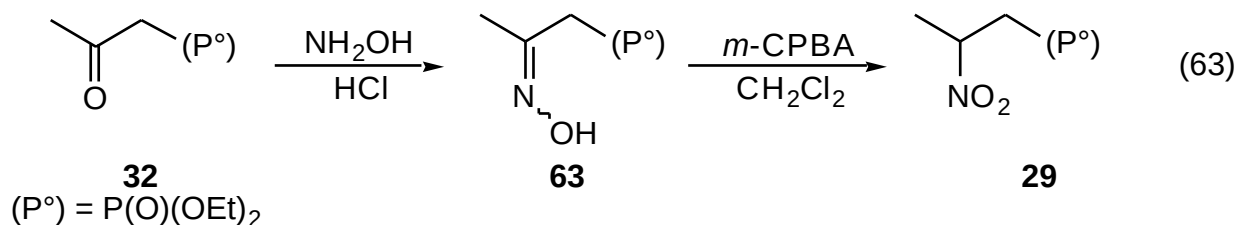


Schéma 2-41 : Réaction de Zòn

b. Synthèse de (4-formyl-2-méthyl-2-nitrobutyl)phosphonate de diéthyle **28**
(Schéma 2-39, étape III)

La condensation d'un carbanion nitré sur l'acroléine, en présence d'une base se fait suivant le Schéma 2-42.

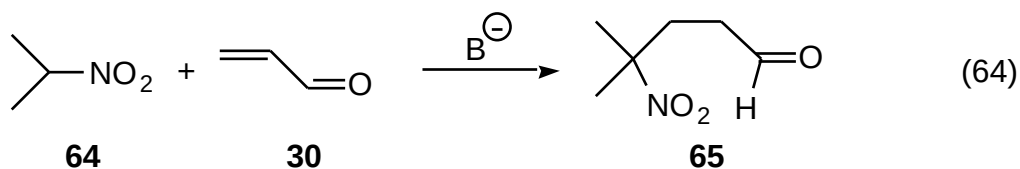


Schéma 2-42 : Addition de Michael

La variation la plus importante dans les diverses additions de Michael mentionnées dans la littérature se situe au niveau du choix de la base. Ainsi le Triton B est employé par un grand nombre d'auteurs⁶⁰⁻⁶², et apparaît dans les modes opératoires dans des proportions variables. Une autre base a été proposée par Warner⁶³ : l'éthylate de sodium, utilisé en quantité catalytique, de son côté Mercier⁶⁴ utilise cette procédure avec succès. Alors que Rosini⁶⁵ utilise l'alumine basique, Ono⁶⁶ réalise sa condensation dans l'acétonitrile en présence d'une quantité catalytique de triéthylamine.

L'étape finale de **65** s'effectuera de la même manière.

c. Synthèse du 2-(diéthoxyphosphorylméthyl)-2-méthyl-3,4-dihydro-2*H*-pyrrole-1-oxyde **3**
(Schéma 2-39, étape IV)

On réalise l'addition d'une hydroxylamine, obtenue par réduction d'un dérivé nitré, sur un carbonyle, en particulier un aldéhyde.

Pour réduire le dérivé nitré, il faut un réducteur sélectif (AlLiH_4 ou le Nickel de Raney conduiraient à la formation de l'amine) (Voir § c page 100). Dans ce cas le réducteur de choix est le zinc en milieu acide plus ou moins fort et les divers travaux sur le sujet ne varient que par la nature de l'acide utilisé (en fonction des autres groupes présents dans la molécule) : l'acide acétique glacial dans l'éthanol pour Haire³, alors que Keana utilise le chlorure d'ammonium dans un mélange méthanol-eau² (Schéma 2-43).

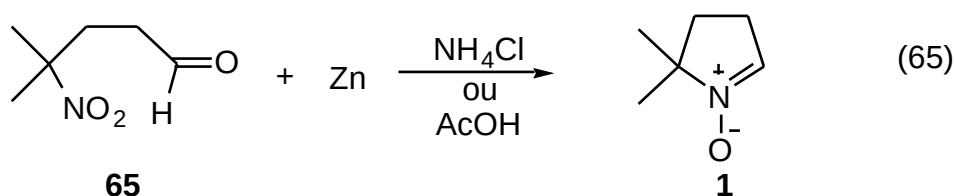


Schéma 2-43 : Réduction cyclisante par le zinc

2.2.2. Résultats et Discussion sur la synthèse de 3

2.2.2.1. Via la réaction d'Arbuzov (Voie n°1)

Le schéma général de synthèse retenu est le suivant : (Schéma 2-44)

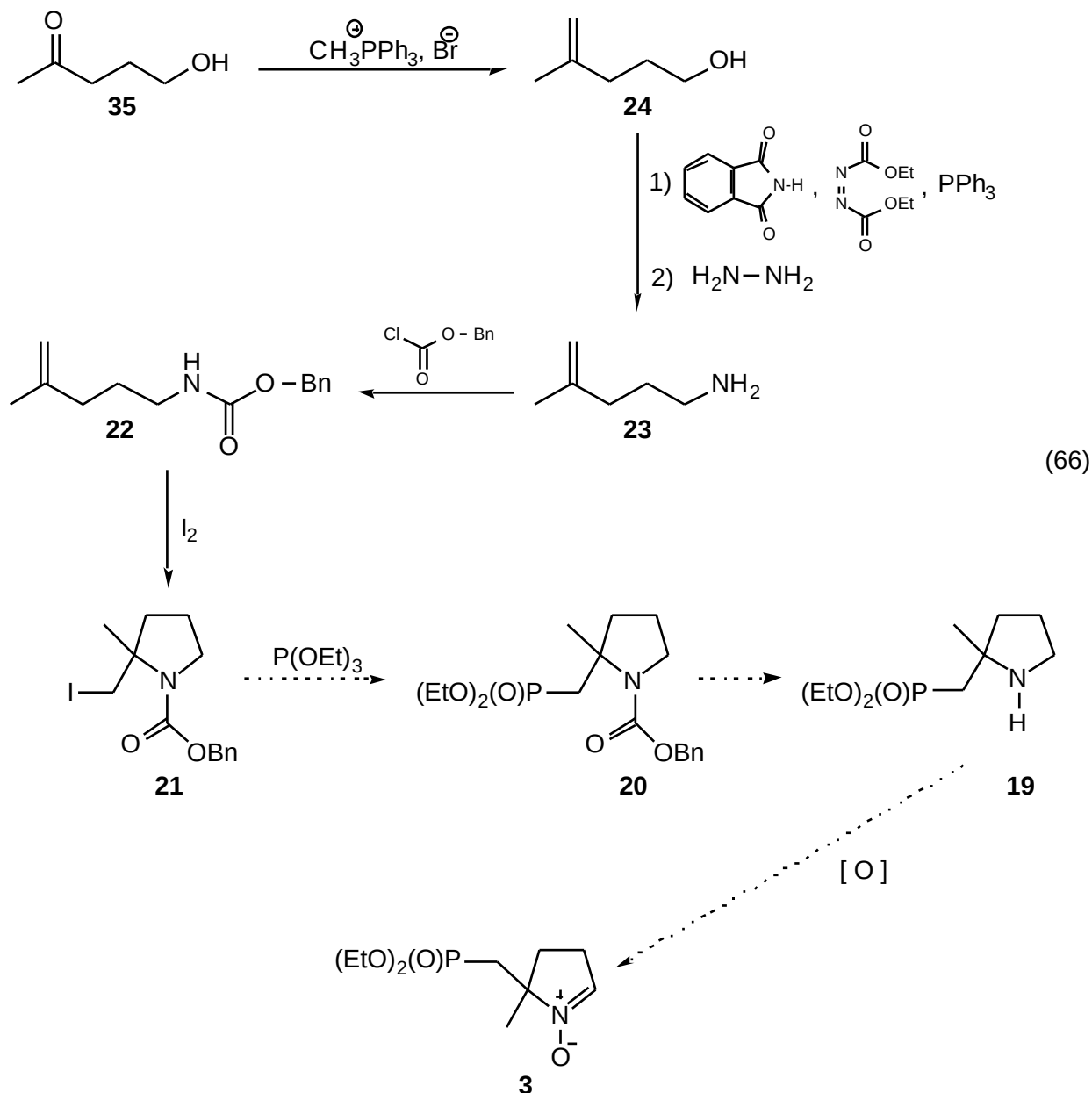


Schéma 2-44 : Schéma de synthèse de la voie n°1

a. Synthèse du 4-méthylpent-4-én-1-ol **24**

Deux voies de synthèse de l'alcool éthylénique **24** ont été successivement essayées.

◆ *Addition du magnésien du 3-bromo-2-méthylprop-1-ène sur l'oxyde d'éthylène¹⁵*

La réaction est la suivante : (Schéma 2-45)

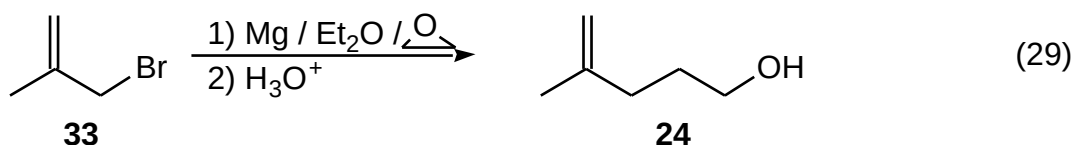


Schéma 2-45 : Addition du magnésien du 3-bromo-2-méthylprop-1-ène sur l'oxyde d'éthylène

Dans la mise en oeuvre de la réaction, nous avons rencontré des problèmes d'homogénéisation lors de l'addition de l'oxyde d'éthylène. L'alcool éthylénique **24** n'a pu être obtenu par cette voie lors de nos essais.

◆ *Par action d'un réactif de Wittig sur le 5-hydroxypentan-2-one*

La synthèse de **24** est décrite par Padwa¹⁸ (Schéma 2-46).

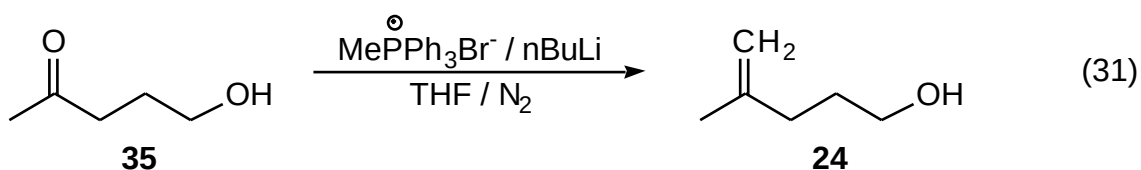


Schéma 2-46 : Réaction de Wittig

Lors des premiers essais, nous avons obtenu des rendements inférieurs à ceux annoncés dans la littérature. En fait, le 5-hydroxypentan-2-one commercial doit être distillé juste avant utilisation pour éliminer le dimère qui se forme rapidement lors du stockage.

De plus, nous avons recherché les conditions optimales pour la purification de **24** par distillation du produit brut. En effet, lors de la distillation, le produit polymérise facilement. Nous avons donc purifié **24** par distillation moléculaire au four à boules (60 ° C, 266 Pa). Dans ces conditions, **24** a pu être obtenu avec un rendement de 52 %, en accord avec ceux annoncés dans la littérature.

b. Synthèse de la 4-méthylpent-4-én-1-amine **23**

Anastasiou mentionne Hegedus¹⁹ qui utilise une modification de la procédure de Mitsunobu.

La synthèse se fait en deux étapes :

◆ *Préparation d'un groupement libérable (Schéma 2-47)*

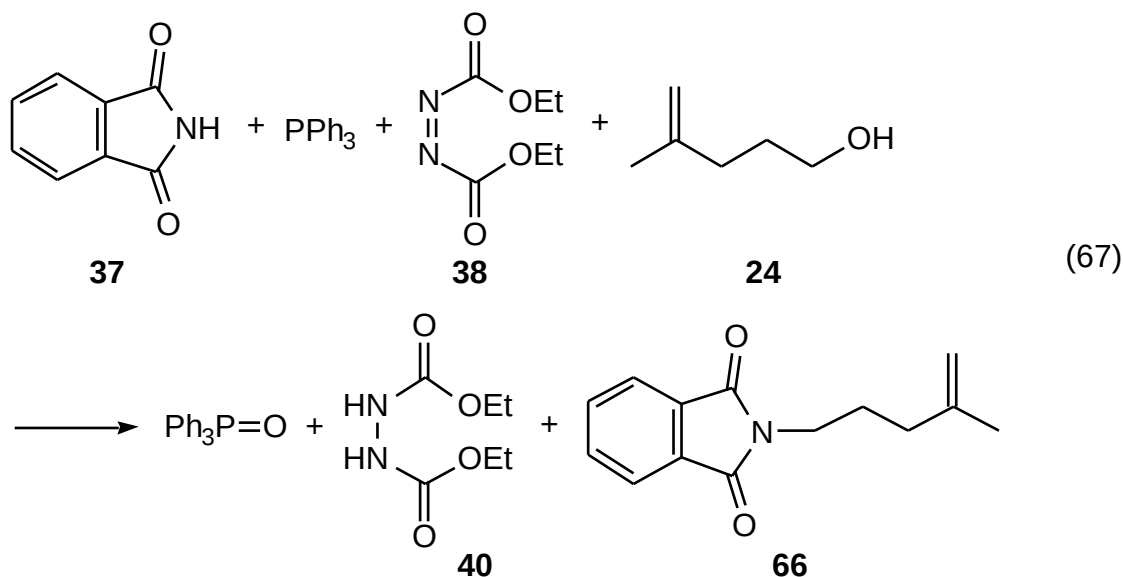


Schéma 2-47 : Préparation du libérable

◆ *Hydrazynolyse (Schéma 2-48)*

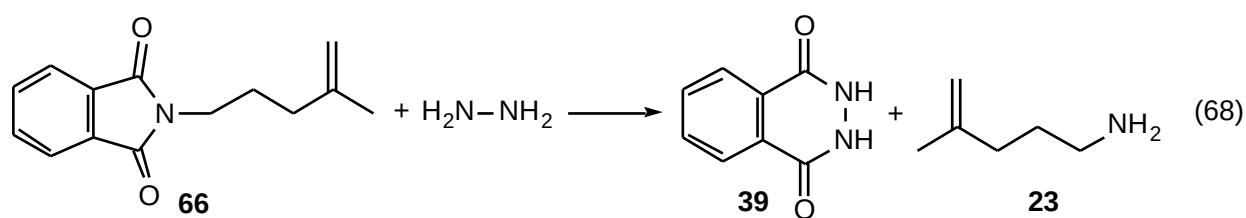


Schéma 2-48 : Hydrazynolyse

Nous avons obtenu l'amine **23** avec un rendement de 38 %. Malgré ce rendement assez faible, nous n'avons pas observé la formation de produits secondaires en proportion appréciable. La CCM analytique révélant la présence de **23** dans la phase aqueuse de traitement, nous avons essayé d'améliorer l'extraction de l'amine en procédant à chaud et en continu (éther diéthylique). Cependant, ceci ne nous a pas permis d'augmenter le rendement de façon significative.

c. Protection de la 4-méthylpent-4-én-1-amine **23**

Nous avons choisi comme groupement protecteur le carbamate de benzyle. Le chloroformiate de benzyle commercial contenant du chlorure de benzyle, il est nécessaire de distiller le réactif avant l'emploi (Schéma 2-49).

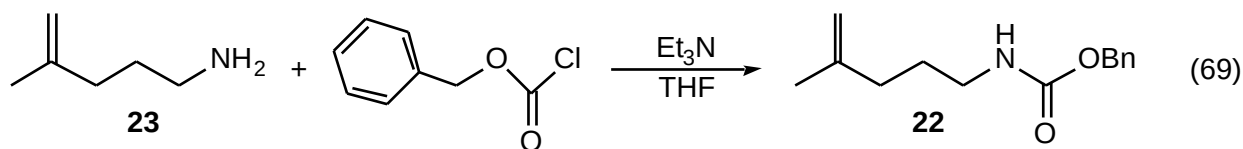


Schéma 2-49 : Protection de **23**

Le carbamate de benzyle de la 4-méthyl-4-penténamine **22** est obtenu avec un rendement de 87 %.

d. Synthèse du *N*-(2-iodométhyl-2-méthyltétraméthylène)carbamate de benzyle **21**

La cyclisation induite par l'iode permet d'accéder directement au composé **21**. Les conditions que nous avons utilisées sont celles décrites par Tamaru³³ (Schéma 2-50).

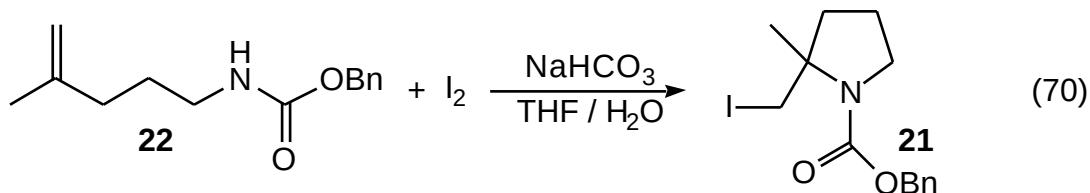


Schéma 2-50 : Cyclisation à l'iode de **18**

La réaction s'effectue avec un rendement en produit brut de 70 %. Les conditions de purification de **21** ont été déterminées par CCM préparative (éther de pétrole / acétone 7 / 3).

e. Réaction d'Arbuzov

Nous avons envisagé d'introduire le groupement diéthoxyphosphoryle dans les conditions suivantes : (Schéma 2-51)

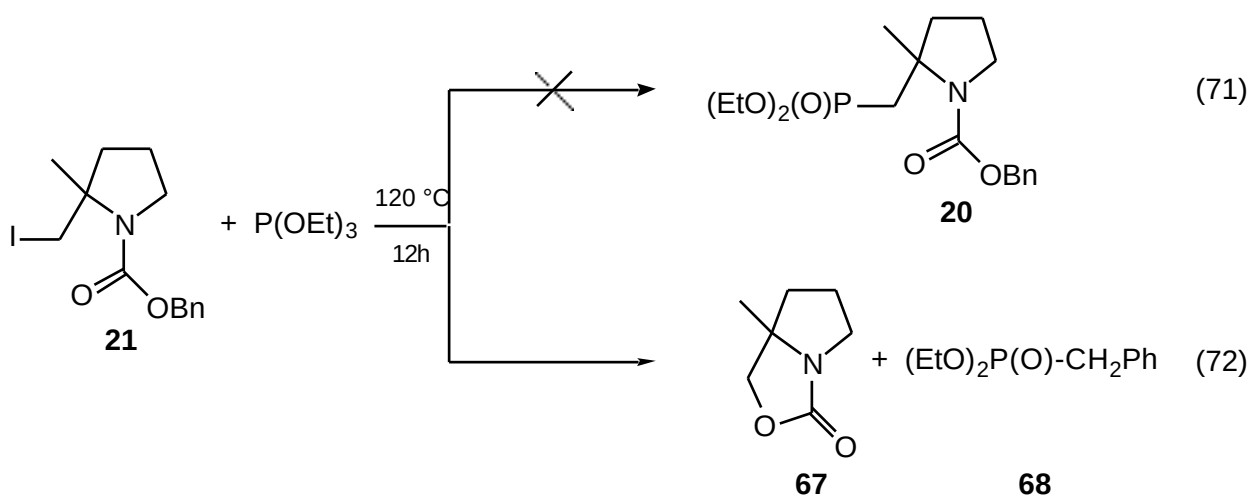


Schéma 2-51 : Réaction d'Arbuzov sur 21

D'après les analyses RMN ^1H et ^{31}P , le produit phosphoré majoritairement formé (δ 25,4 ppm) est le phosphonate de benzyle diéthylique **68**. La formation de ce phosphonate peut s'expliquer par une cyclisation intramoléculaire de **21** pour conduire à une oxazolidone bicyclique **67** (réaction 72). Cette cyclisation s'accompagne de la libération d'iodure de benzyle qui réagit avec le phosphite de triéthyle.

f. Conclusion voie n°1

L'échec de la réaction d'Arbuzov dans notre cas précis est vraisemblablement imputable à l'encombrement stérique (nous sommes en α d'une structure *néopentylique*). En effet la littérature récente rapporte deux réactions effectuées avec succès sur des substrats analogues^{67,68}.

Nous avons également tenté la phosphorylation par la réaction de Michaelis-Becker pour laquelle nous avons obtenu un gel et perdu tous nos produits initiaux. Nous avons aussi essayé la réaction de Michaelis-Becker inversée sans plus de succès : la quantité de **21** mise en jeu fut trop faible pour réaliser le magnésien. Afin d'expliquer l'échec de la réaction 71, il serait bon de préciser la stabilité du substrat **21** et ainsi pouvoir déterminer la température maximale de cette réaction.

Enfin et surtout on peut envisager l'emploi d'autres groupements protecteurs de la fonction amine tel que tosylate, *N*-alkoxyamine, *N*-silylamine

D'autres stratégies, dont les schémas se trouvent en annexe ont été envisagées mais non développées.

2.2.2.2. Via l'addition d'un organométallique (Voie n°2 et 2')

La voie 2 a été étudiée au laboratoire par Stipa, mais n'a pas abouti (Voir § a p 62). Cet échec nous a conduits à nous intéresser à la voie 2' (Schéma 2-52).

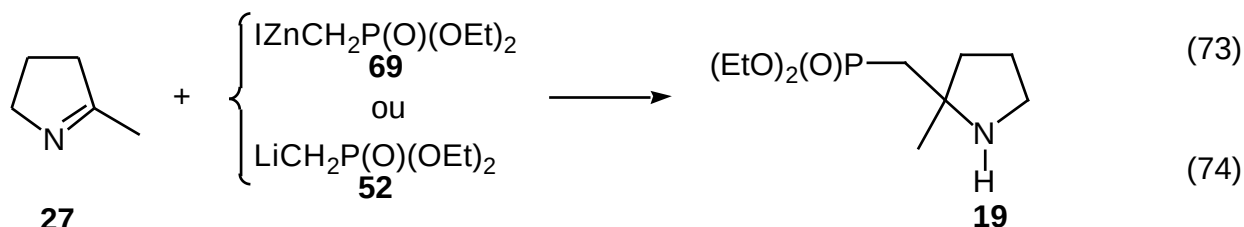


Schéma 2-52 : Etape clef de la voie n°2'

Lors de nos essais concernant la réaction de Reformatsky nous n'avons pas obtenu la molécule désirée mais uniquement du méthylphosphonate de diéthyle **51**. L'addition sur imine (réaction 73, Schéma 2-53) ne se fait pas et nous avons obtenu seulement du produit d'hydrolyse du dérivé organozincique (réaction 75, Schéma 2-53).

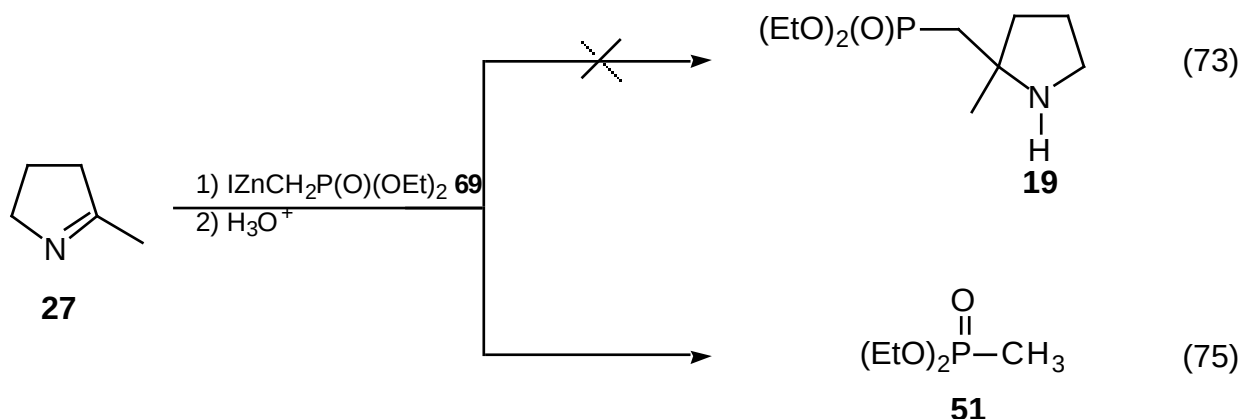


Schéma 2-53 : Réaction de Reformatsky

Nous avons alors remplacé l'organozincique par un organolithien. D'après la méthode de Coutrot³⁹ nous avons préparé du méthylphosphonate de diéthyle **51** et obtenu l'organolithien correspondant **52** que nous avons fait réagir sur le 5-méthyl-3,4-dihydro-2H-pyrrole **27** selon le mode opératoire décrit par ces auteurs. Dans ce cas nous avons seulement retrouvé les réactifs initiaux et des produits non identifiés.

Il semblerait que le 5-méthyl-3,4-dihydro-2H-pyrrole **27** ne soit pas assez électrophile. On peut activer **27** par de l'éthérate diéthylique de trifluorure de bore ($\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$)⁶⁹. D'autres auteurs utilisent le triflate de TMSO pour activer des imines⁷⁰. Un essai d'activation de **27** avec de l'éthérate diéthylique de trifluorure de bore ($\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$) ne nous a conduits qu'à la formation de méthylphosphonate de diéthyle **51**.

Nous avons également tenté une approche radicalaire selon le Schéma 2-38. En fait, ce n'est pas la réaction 59 qui a lieu. L'addition de radicaux sur imines ne se fait pas sauf intramoléculairement⁷¹. C'est en fait la réaction 76 qui a lieu (Schéma 2-54).

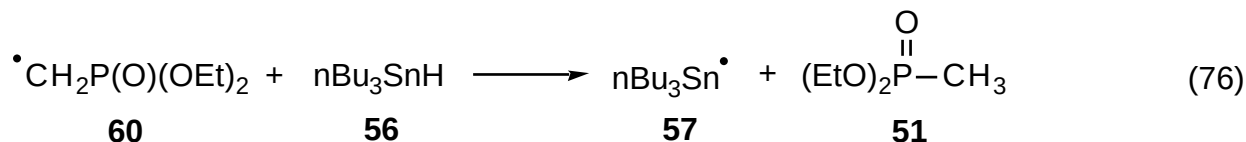


Schéma 2-54 : Réaction parasite lors de la réaction radicalaire

En conclusion nous pouvons dire que les voies 2 et 2' représentaient des voies d'accès audacieuses pour la nitrone **3**. Malheureusement celles-ci n'ont pas abouti car l'étape clé de ces réactions était l'addition d'un organométallique sur une imine ou une nitrone. Dans les deux cas, c'est cette étape qui a échoué.

2.2.2.3. Via la réduction d'un groupement nitro (Voie n°3)

Ce travail a été effectué en collaboration avec V. Roubaud et a fait l'objet de deux publications^{55,56}. Le schéma de synthèse retenu est le Schéma 2-39, page 65.

a. Synthèse du 2-nitropropylphosphonate de diéthyle **29** (Schéma 2-39, étapes I et II)

Nous avons initialement essayé la méthode qui passe par l'oxime **63**. Nous avons bien obtenu celle-ci avec de bons rendements (80 %) en utilisant la méthode de Breuer⁷². Mais nous ne sommes pas parvenus à l'oxyder en dérivé nitré par la méthode de Zòn⁵⁹ : on reforme le dérivé carbonylé initial.

Nous avons donc opté pour la méthode décrite par Savignac⁵⁷ (Schéma 2-55) pour l'amine. Elle a été obtenue avec un bon rendement (86 %) mais l'oxydation conduit à un rendement plus faible (69 %)⁵⁸.

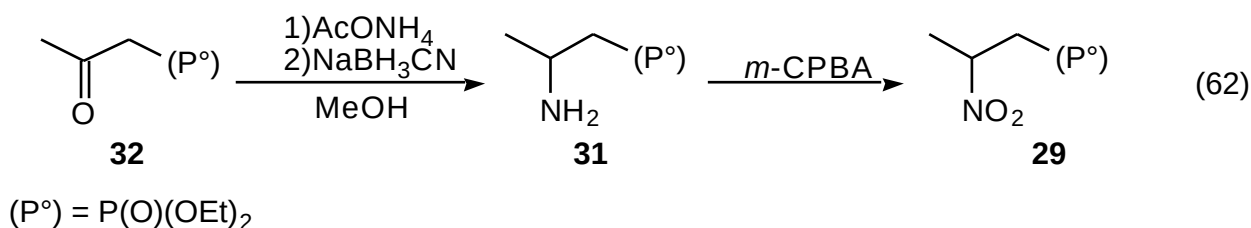


Schéma 2-55 : Synthèse du 2-nitropropylphosphonate de diéthyle **29**

b. Synthèse de (4-formyl-2-méthyl-2-nitrobutyl)phosphonate de diéthyle **28**
(Schéma 2-39, étape III)

Pour l'addition 1,4 du 2-nitropropylphosphonate de diéthyle **29** sur l'acroléine **30**, nous avons employé comme base le Triton B dans l'acétonitrile. L'addition des réactifs se fait à 0 °C et la réaction s'effectue à 10 °C. Ces précautions sont nécessaires, afin d'éviter la polymérisation de l'acroléine. La pureté du produit **28** brut est suffisante pour permettre son utilisation dans l'étape suivante.

c. Synthèse du 2-(diéthoxyphosphorylméthyl)-2-méthyl-3,4-dihydro-2*H*-pyrrole-1-oxyde **3**
(Schéma 2-39, étape IV)

Nous avons utilisé le couple zinc - acide acétique dans l'éthanol (mode opératoire de Haire³). Nous obtenons la nitrone **3** avec un rendement de 30 % après purification.

d. Conclusion voie n°3

L'utilisation de réactions simples et bien maîtrisées au laboratoire, nous a permis de synthétiser le 2-(diéthoxyphosphorylméthyl)-2-méthyl-3,4-dihydro-2*H*-pyrrole-1-oxyde **3** avec un rendement correct et une pureté suffisante pour effectuer les études de spin-trapping *in vitro* qui sont décrites au § 3.2.1 page 161.

2.2.3. Conclusion sur la synthèse du 2-(diéthoxyphosphorylméthyl)-2-méthyl-3,4-dihydro-2*H*-pyrrole-1-oxyde **3**

En conclusion sur la synthèse de la nitrone **3**, nous pouvons dire que nous avons tenté de nombreuses voies de synthèse (dont certaines sont présentées en annexe). Nous avons ainsi essayé tour à tour deux des méthodes les plus générales de synthèse de nitrones : l'oxydation d'une amine secondaire et la cyclisation par réduction d'un groupement nitro sur un groupement carbonyle.

La première de ces voies a échoué, probablement du fait d'un problème de stabilité thermique de **21**, car la réaction d'Arbuzov requiert des températures assez élevées (150 °C³⁴). D'autres essais auraient peut-être été nécessaires pour déterminer si un changement de protection pourrait accroître cette stabilité.

Les voies 2 et 2', bien qu'audacieuses (introduisant le groupement $-\text{CH}_2\text{P}(\text{O})(\text{OEt})_2$ en une seule étape), ne nous ont pas permis d'obtenir la molécule cible. Ceci peut être lié à un trop fort encombrement stérique de ce groupement^{67,68}.

Enfin une série de réactions classiques (voie n°3), bien que n'ayant jamais été réalisées sur ce type de composés (molécules **32**, **31** et **28**), nous a permis d'obtenir **3**, bien qu'il y ait eu deux possibilités d'arracher un proton dans l'étape faisant intervenir une addition de Michael (Schéma 2-39, étape III). D'après Breur⁷³ les effets électroniques du groupement phosphonate de méthyle sont comparables à ceux d'un groupement CF_3 , lui-même étant considéré comme moins électroattracteur que le groupement nitro : le proton A est donc plus acide que les protons B (Schéma 2-56).

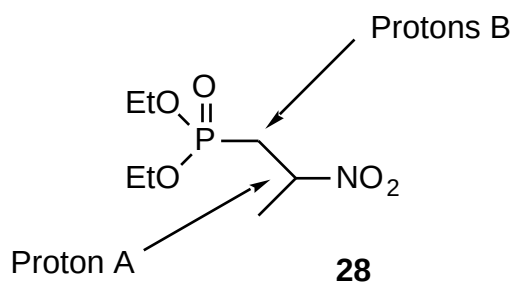


Schéma 2-56 : Possibilités d'arrachement de protons dans **28**

2.3.SYNTHESE DU 5,5-BIS DIETHOXYPHOSPHORYL-3,4-DIHYDRO- 2H-PYRROLE-1-OXYDE (DPBO) 4

2.3.1.Etude bibliographique de la synthèse de 4

Là aussi nous avons envisagé trois voies rétrosynthétiques, basées sur l'oxydation de la pyrrolidine **70**. Le Schéma 2-57 représente les trois voies de synthèses étudiées. Nous développerons au § 3.2.5 page 186 une étude RPE du nitroxyde dérivé de **70**, qui nous a permis d'obtenir des informations sur la géométrie de ce type de molécules.

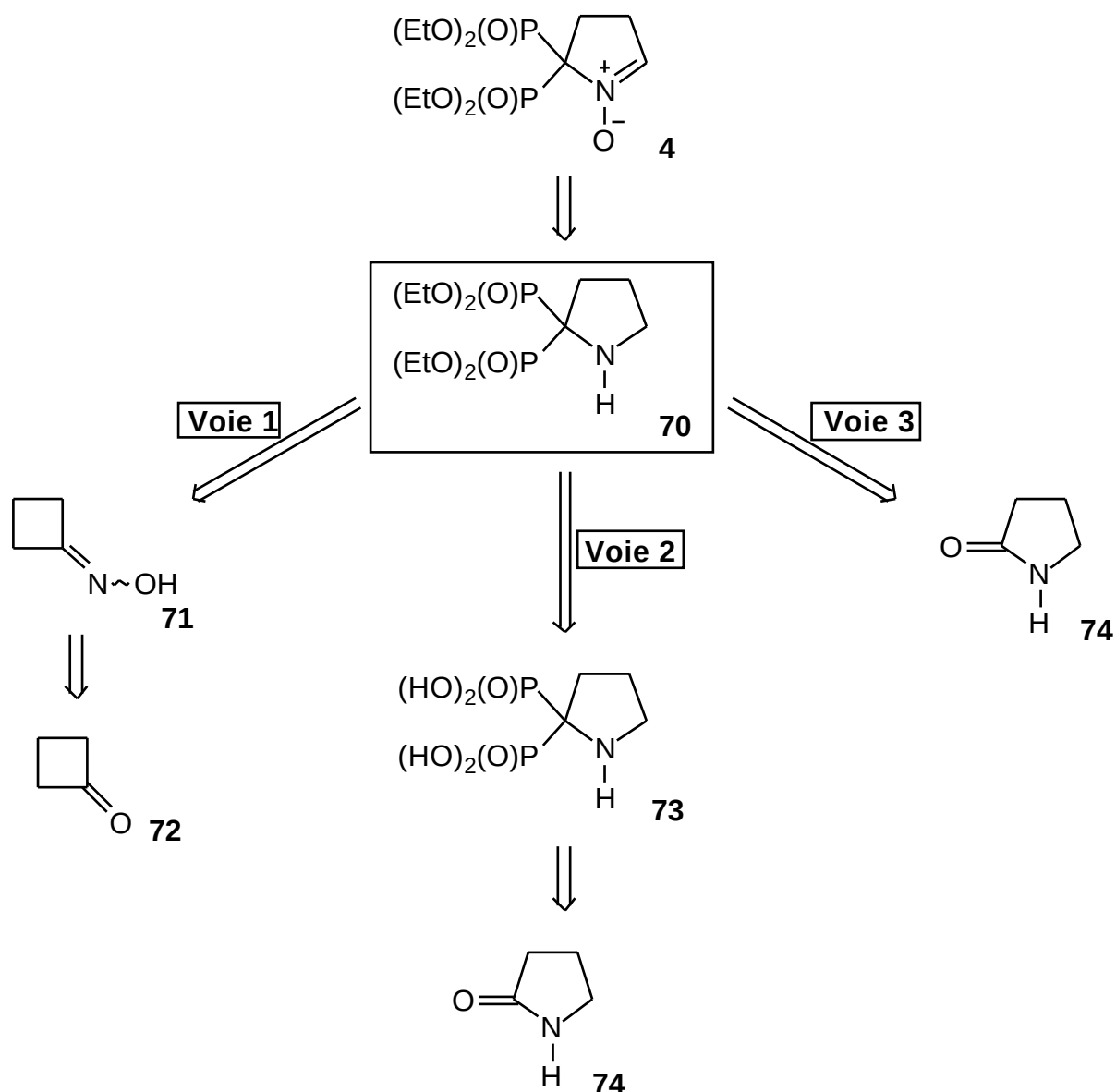


Schéma 2-57 : Schéma rétrosynthétique du

2.3.1.1. Via le réarrangement de Beckmann (Voie n°1)

a. Synthèse de la cyclobutanone-oxime **71**

Il existe très peu de publications concernant la cyclobutanone-oxime **71**. Aucune d'ailleurs ne donne directement sa synthèse. Iffland^{74,75} qui décrit l'oxydation des oximes en dérivés nitrés, ne rapporte pas la synthèse de l'oxime mais seulement sa purification. Hawkes⁷⁶ ne décrit qu'une synthèse générale des oximes mais fournit les spectres RMN ¹³C des oximes et des cétones correspondantes. Bousquet⁷⁷ synthétise l'heptaldoxime à partir de l'heptanal, de l'hydroxylamine et du carbonate de sodium. Bien que Finiels⁷⁸ étudie l'influence de la taille du cycle (4 à 9 chaînons) lors de l'oximation, il ne décrit toutefois pas de mode opératoire.

b. Réarrangement de Beckmann

Classiquement, le réarrangement de Beckmann est réalisé en milieu acide selon le Schéma 2-58.

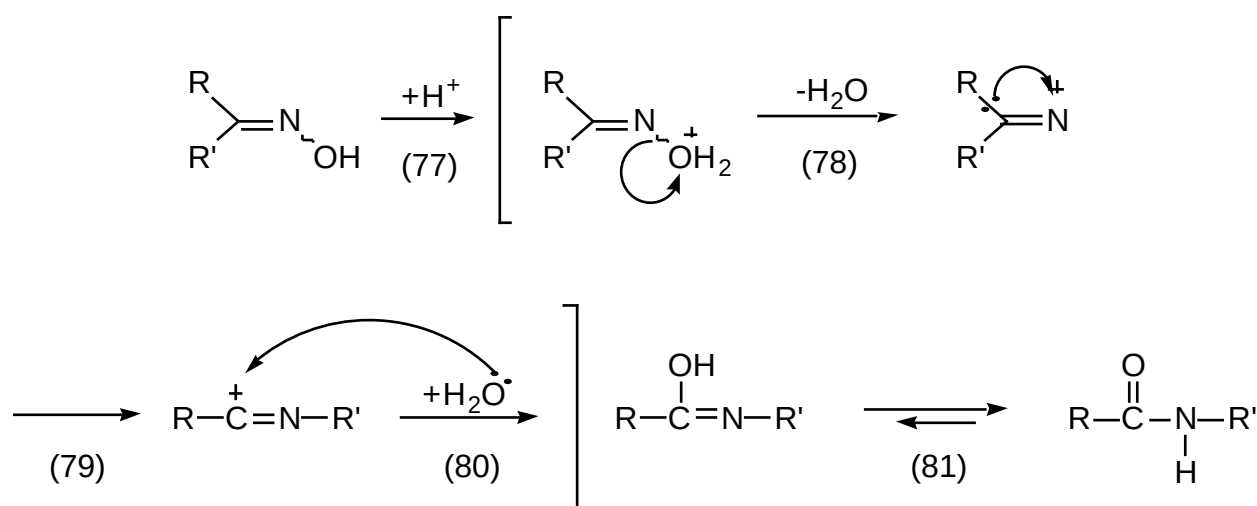


Schéma 2-58 : Réarrangement de Beckmann en milieu acide

- Remarques: *
- * Dans l'étape (79), c'est le groupement en position *anti* du groupement OH qui migre (R ou R').
 - * En principe on utilise l'acide sulfurique. Vinnik⁷⁹ donne la cinétique et les mécanismes dans sa publication.

Cunningham⁸⁰ présente une transposition de Beckmann effectuée par voie photochimique (Schéma 2-59). Dans le cas de la cyclobutanone-oxime, il obtient ainsi un rendement de 4 %.

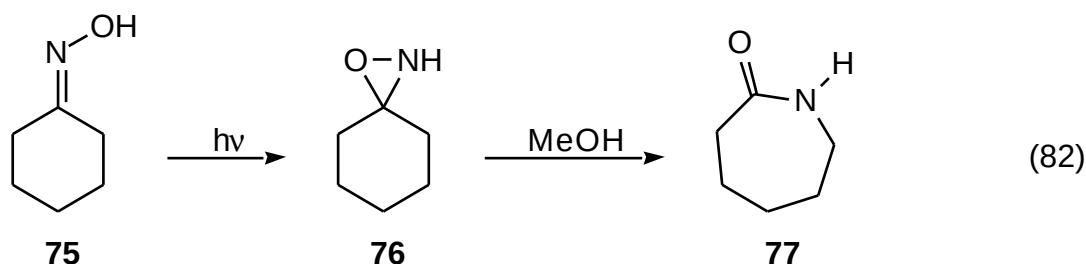


Schéma 2-59 : Transposition de Beckmann par voie photochimique

Certains, comme Olah⁸¹ ou Novoselov⁸², utilisent une hydroxylamine substituée et notamment l'acide amino-oxy sulfonique ($\text{H}_2\text{N}-\text{O}-\text{SO}_2-\text{OH}$) avec l'acide formique comme donneur de proton.

De plus Novoselov⁸² indique qu'on peut obtenir théoriquement une amide ou un nitrile selon le Schéma 2-60. Il précise toutefois que les données expérimentales dont il dispose ne permettent pas de choisir entre les deux possibilités.

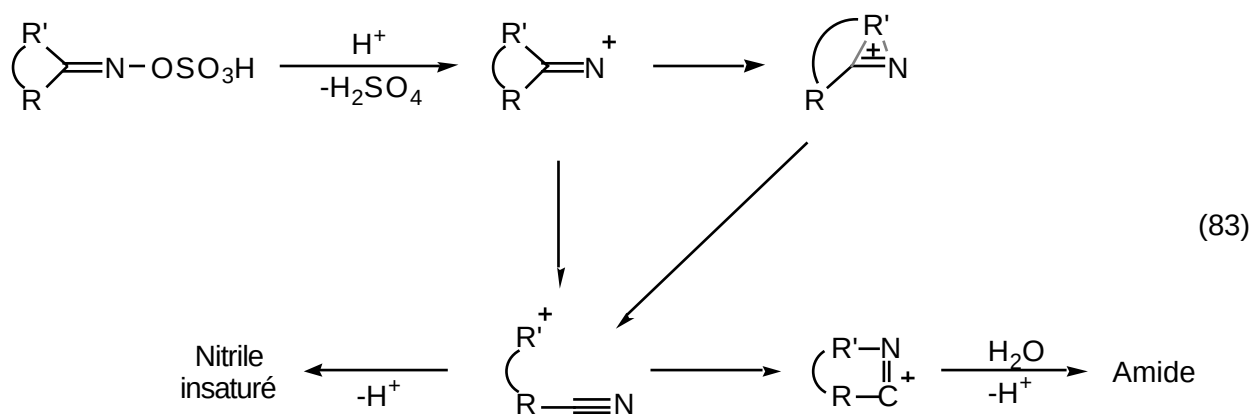


Schéma 2-60 : Produits de la réaction de Beckmann

Yokomatsu⁸³ propose une variante intéressante de la réaction de Beckmann. Il utilise comme nucléophile un phosphite de di- ou trialkyles. En effet Yokomatsu⁸³ a montré que cette procédure s'avérait efficace dans le cas de cycles à 6 ou 7 chaînons (Schéma 2-61).

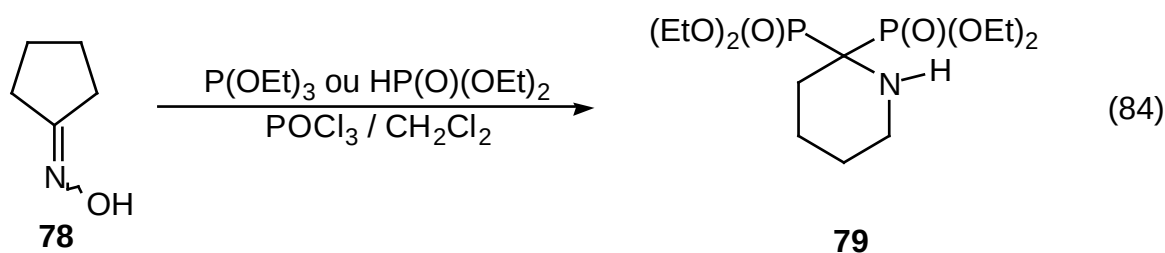


Schéma 2-61 : Extension de la réaction de Yokomatsu

Yokomatsu propose aussi un réarrangement en partant d'un mésylate d'oxime en présence de chlorure de diéthylaluminium (Et_2AlCl) (Schéma 2-62).

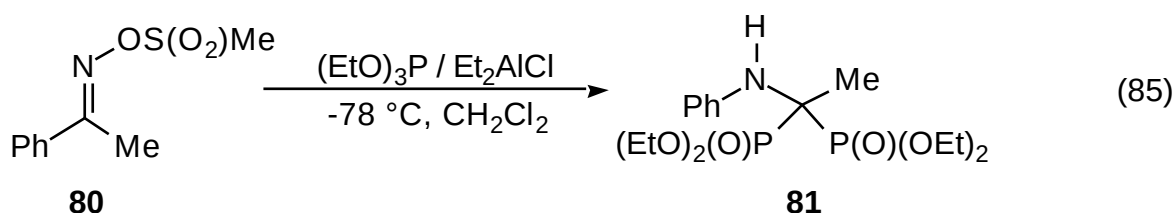


Schéma 2-62 : Autre réaction de Yokomatsu

2.3.1.2. Via l'acide (pyrrolidine-2,2-diyl)bisphosphonique **73** (Voie n°2)

Une étude bibliographique sur l'intermédiaire acide bisphosphonique **73** montre que ce type de composé peut avoir un nombre élevé d'applications dont certaines thérapeutiques, grâce notamment à leur fort pouvoir de complexation. De nombreux brevets ont d'ailleurs été déposés concernant ce type de composés⁸⁴⁻⁸⁹.

a. Synthèse de l'acide (pyrrolidin-2,2-diyl)bisphosphonique **100**

La synthèse est décrite par Zilch *et al.* dans un brevet déposé par Boehringer⁸⁴ afin d'obtenir les molécules **82** présentées au Schéma 2-63. On peut résumer la synthèse de la façon suivante : (Schéma 2-63)

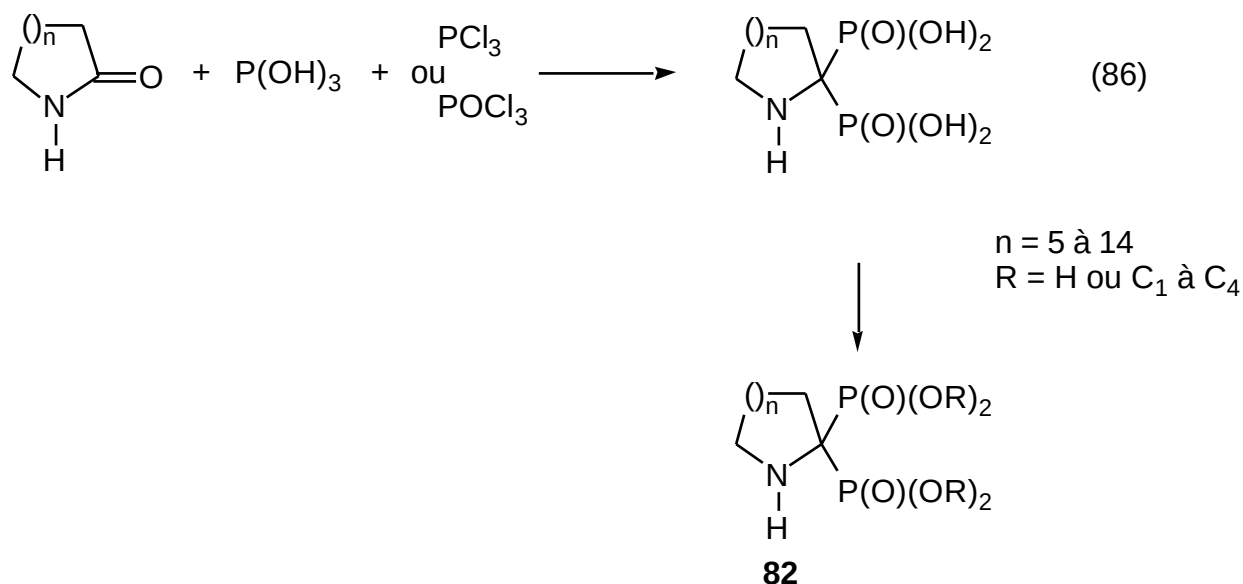


Schéma 2-63 : Principe du brevet de Zilch

Plöger, dans un brevet pour Henkel⁸⁷ n'utilise que le trichlorure de phosphore pour toutes ses synthèses ainsi que Worms⁹⁰.

Zilch après avoir estérifié la forme acide (voir ci-dessous § b page 81) réalise l'hydrolyse du tétraester, soit pour obtenir un diacide en utilisant l'iodure de sodium dans l'acétone à température ambiante, soit pour conduire au tétracide en utilisant l'acide bromhydrique ou l'acide chlorhydrique à chaud (Schéma 2-64).

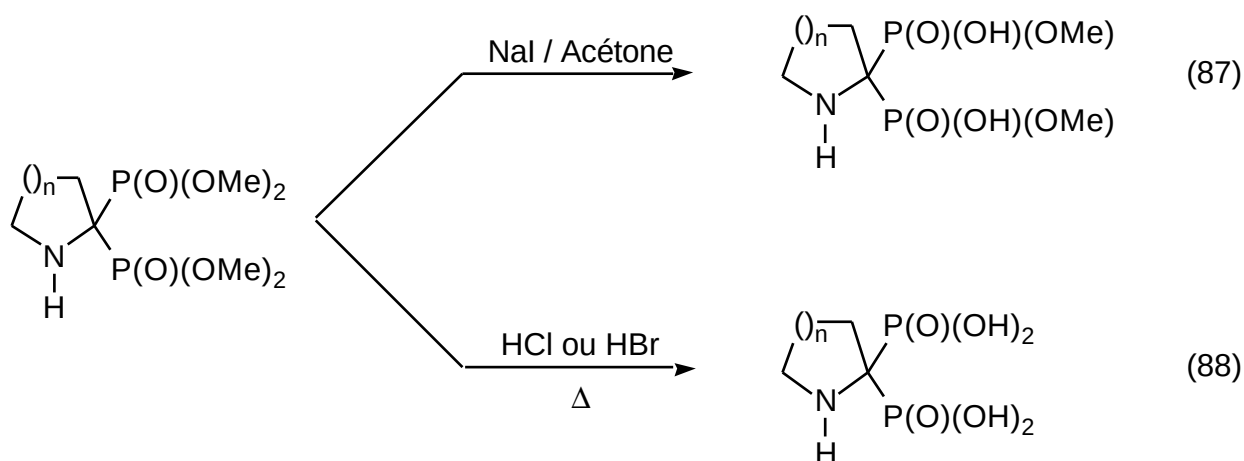


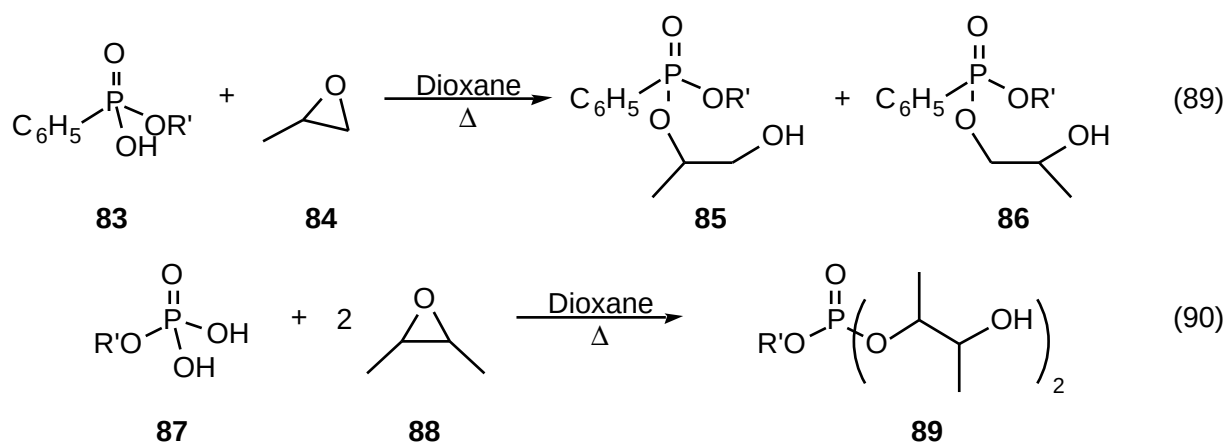
Schéma 2-64 : Hydrolyse de phosphonate

b. Estérification de l'acide (pyrrolidin-2,2-diyl)bisphosphonique **73**

Les travaux sur l'estérification des acides phosphoniques sont rares. Dans son brevet Zilch⁸⁴ indique, sans mode opératoire explicite, qu'il obtient un tétraalkylester en utilisant l'orthoformiate d'éthyle à chaud. Vepsäläinen⁹¹, bien qu'il travaille sur des dérivés gemdiphosphorés acycliques,

utilise les même réactifs et se réfère à Nicholson⁹². Vepsäläinen précise que la réaction marche bien avec des orthoformiates de *N*-alkyle à courte chaîne, mais que sa valeur préparative est limitée par le fort excès de formiate nécessaire et que le formiate d'alkyle résiduel est difficile à éliminer lors de la purification des produits formés. Nicholson⁹² indique que contrairement aux acides carboxyliques, les acides phosphoniques ne sont pas directement estérifiables par les alcools. Nicholson a effectué de nombreuses estérifications d'acides phosphoniques, notamment de dérivés gemdiphosphorés, en présence d'orthoformiates de trialkyle. Il obtient toujours d'excellents rendements (> 60 %). Dans la même publication, Nicholson mentionne que des essais d'estérification par le diazométhane se sont soldés par un échec, l'ester subissant un réarrangement phosphate-phosphonate^{92,93}. En utilisant l'orthoformiate de méthyle, il obtient alors le tétraester avec un rendement de 70 %.

Sprecher⁹⁴ dans un travail sur l'hydrolyse de monoester de phosphates et de phosphonates utilise une estérification peu connue par des oxiranes. Il emploie soit un phosphonate monoacide soit un phosphate diacide : (Schéma 2-65)



R' = Stéroïde

Schéma 2-65 : Estérification par des oxiranes

Il existe de nombreuses autres publications sur ce sujet.

2.3.2. Résultats et discussion sur la synthèse de 4

Les voies de synthèse envisagées sont en tous points conformes au schéma rétrosynthétique proposé (Schéma 2-57). Nous avons étudié les trois voies de synthèse bien que nous n'ayons pas trouvé de travaux dans la littérature concernant la troisième. C'est donc une réaction nouvelle qui a été développée.

2.3.2.1. Via le réarrangement de Beckmann (Voie n°1)

Le schéma de synthèse retenu est le suivant : (Schéma 2-66)

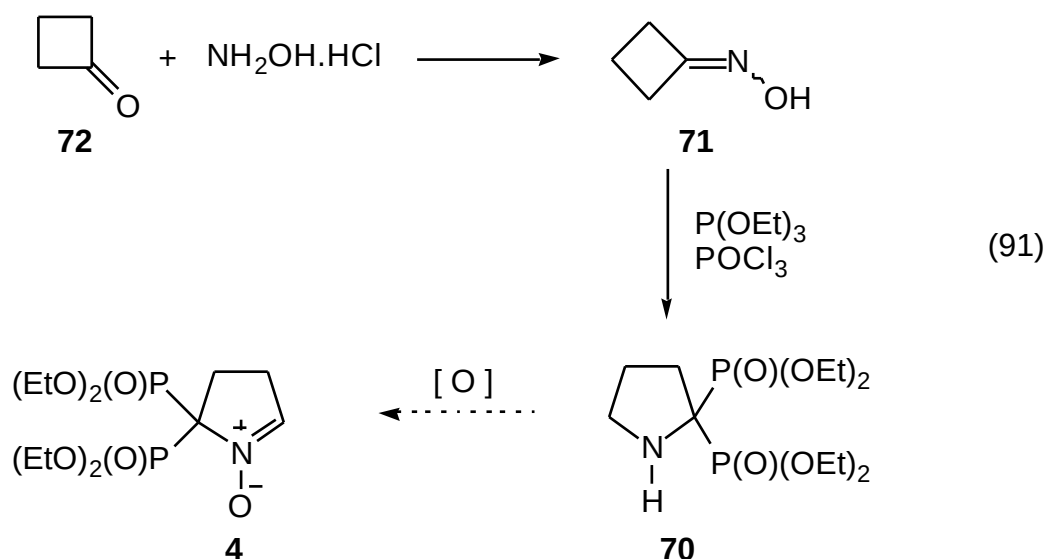


Schéma 2-66 : Synthèse de 4 via la réaction de Beckmann (Voie n°1)

a. Synthèse de la cyclobutanone-oxime 71

Comme aucun des articles cités dans l'étude bibliographique (§ a p 78) ne décrit la synthèse de la cyclobutanone-oxime 71, nous nous sommes donc inspirés de trois articles^{74,76,77} pour réaliser la réaction suivante : (Schéma 2-67)

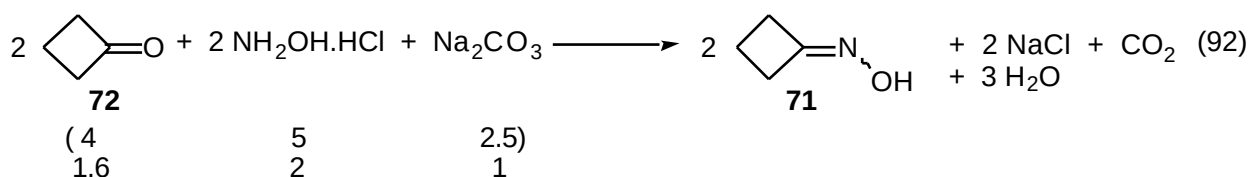


Schéma 2-67 : Synthèse de l'oxyme de la cyclobutanone 71

La réaction se fait à température ambiante, la température ne devant pas dépasser 45 °C lors de l'addition du carbonate.

On obtient des cristaux de **71** purs, avec un rendements de 75 % par rapport à la cyclobutanone.

b. Réarrangement de Beckmann

Dans sa publication, Yokomatsu⁸³ utilise deux phosphites différents : le phosphite de diéthyle et le phosphite de triéthyle. Notre premier essai avec le phosphite de diéthyle s'est soldé par un échec. Nous avons donc opté pour le phosphite de triéthyle selon le Schéma 2-68 :

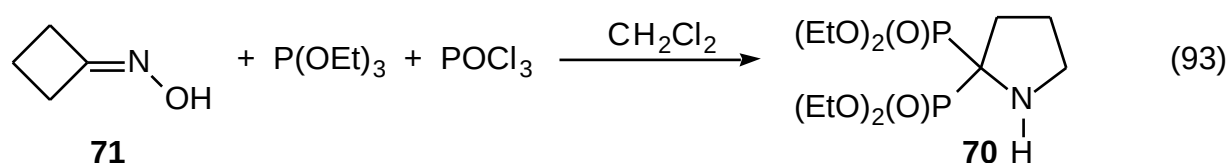


Schéma 2-68 : Réaction de Beckmann selon Yokomatsu

Par oxydation du produit réactionnel en présence d'acide *métachloroperbenzoïque*, nous avons pu observer en RPE le spectre à 27 raies du nitroxyde correspondant à l'aminobisphosphonate **70**. L'étude RMN met toutefois en évidence la présence de plusieurs produits (6 pics en RMN du ³¹P) : malgré toutes nos tentatives de purification (distillation, CCM) nous ne sommes jamais arrivés à obtenir le produit **70** pur .

2.3.2.2. Via l'acide (pyrrolidine-2,2-diyl) bisphosphonique 73 (Voie n°2)

Nous avons donc essayé le Schéma 2-69 suivant :

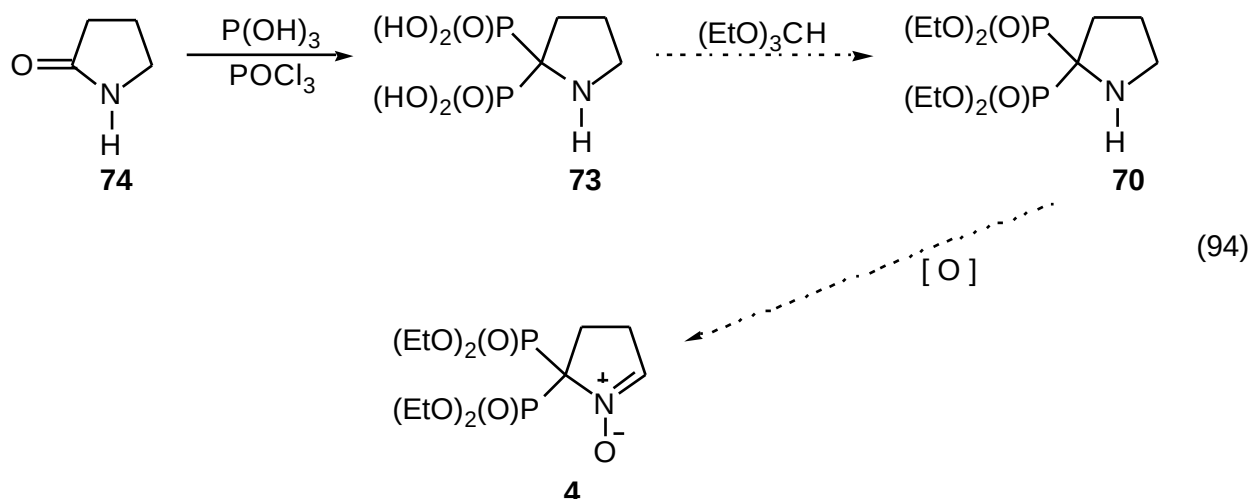


Schéma 2-69 : Synthèse de **4** via l'acide (pyrrolidine-2,2-diyl) bisphosphonique **73** (Voie n°2)

a. Synthèse de l'acide (pyrrolidine-2,2-diyl)bisphosphonique **73**

La réaction a été conduite selon le mode opératoire 5 du brevet de Boehringer⁸⁴. La réaction se fait à chaud (80 à 100 °C) en prenant de nombreuses précautions lors de l'addition de l'oxychlorure de phosphore car la réaction est violente et il y a un fort dégagement de chlorure d'hydrogène. Après hydrolyse on obtient au bout de 48 h des cristaux d'une excellente pureté (Schéma 2-70) et qui sont solubles seulement dans des solutions aqueuses basiques. Le rendement de la réaction est de 18 % par rapport à l'acide phosphoreux.

Nous avons déterminé la structure de **73** par RX. Ces caractéristiques se trouvent dans la partie expérimentale à la page 220.

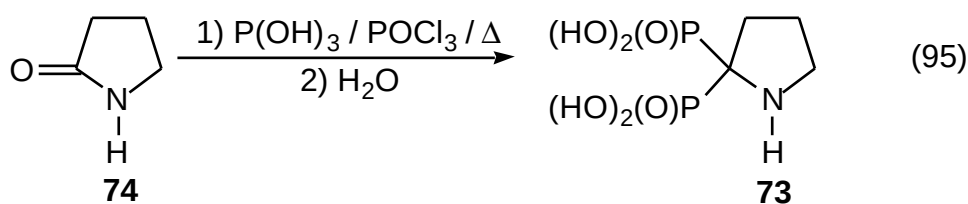


Schéma 2-70 : Synthèse de l'acide (pyrrolidine-2,2-diyl)bisphosphonique **73**

b. Estérification de l'acide (pyrrolidine-2,2-diyl)bisphosphonique **73**

A cause de l'insolubilité du composé **73** et malgré plusieurs tentatives nous n'avons pu transposer la méthode de Zilch⁸⁴ à notre composé. Comme Nicholson⁹², nous avons essayé d'employer l'orthoformiate d'éthyle en chauffant sans obtenir aucun résultat. Nous avons également essayé une estérification "plus classique", c'est-à-dire en utilisant l'alcool éthylique en large excès. Ainsi que le signale Nicholson⁹², la réaction même après trois semaines, ne se fait pas.

2.3.2.3. Via la synthèse en une étape de (pyrrolidine-2,2-diyl)bisphosphonate de tétraéthyle **70 (Voie n°3)**

a. Synthèse de (pyrrolidine-2,2-diyl)bisphosphonate de tétraéthyle **70**

Dans cette partie nous avons effectué des réactions qui ne sont pas décrites dans la littérature. Lors d'essais préliminaires nous avons utilisé le phosphite de diéthyle sur la pyrrolidin-2-one **74** avec de l'éthérate diéthylique de trifluorure de bore ($\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$) comme catalyseur (Schéma 2-71).

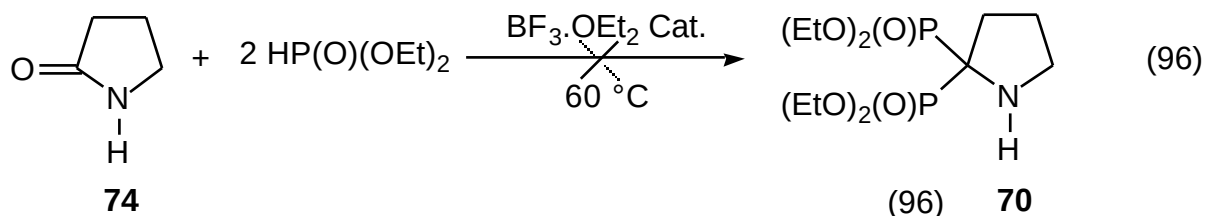


Schéma 2-71 : Utilisation de phosphite de diéthyle et de l'éthérate diéthylique de trifluorure de bore ($\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$) comme catalyseur

Même après dix jours de réaction on n'observe aucun signal RPE correspondant au nitroxyde issu de l'aminophosphonate après oxydation du mélange réactionnel avec le *m*-CPBA. L'analyse RMN indiquait un avancement de réaction nul.

Nous avons décidé de nous inspirer largement du brevet de Zilch⁸⁴. Dans un premier temps, nous avons utilisé les mêmes conditions de température et de neutralisation basique à la soude (afin d'extraire la pyrrolidine **70** de l'eau). Les rendements alors obtenus ont été médiocres (5 %) et la pureté insuffisante malgré les diverses techniques de purification mises en oeuvre (traitement acido-basique, CCM préparative, colonne chromatographique). L'utilisation de l'ammoniaque comme base n'a pas apporté d'amélioration. Malgré toutes les tentatives d'extraction, une partie du

produit restait en phase aqueuse : l'addition de *m*-CPBA à la phase aqueuse conduit à l'obtention d'un signal RPE de 27 raies. En mettant dans une solution aqueuse basique de l'acide (pyrrolidine-2,2-diyl)bisphosphonique **73** nous avons observé un signal RPE à 21 raies. Il semble donc qu'une fonction ester phosphonique soit hydrolysée lors de la réaction. En effet, comme il est indiqué au § d p 56, l'acide chlorhydrique à chaud peut hydrolyser les phosphonates. Or le mélange réactionnel a été chauffé (entre 40 et 60 °C) et au cours de la réaction nous avons effectivement observé un dégagement de chlorure d'hydrogène. Nous avons alors répété l'expérience, toujours sous courant d'azote, mais en refroidissant par un bain eau / glace / sel lors de la lente addition de l'oxychlorure de phosphore. Puis le mélange réactionnel a été laissé 5 heures à température ambiante. On obtient alors le (pyrrolidine-2,2-diyl)bisphosphonate de tétraéthyle **70** avec un rendement en brut de 75 %, pour une pureté de 75 %. Après un traitement classique acido-basique le produit **70** est obtenu pratiquement pur avec un rendement de 50 % et peut être utilisé pour les étapes ultérieures sans traitement supplémentaire. La réaction a été étendue à différents phosphites. La réaction avec le phosphite de triisopropyle est en tout point semblable à celle avec le phosphite de triéthyle (rendement environ 45 %). Quand on utilise le phosphite de tri-*n*-butyle la purification est plus délicate. Lors du traitement acido-basique, dans tous les cas la pyrrolidine **91** passe dans la phase organique empêchant toute purification par cette méthode. On obtient alors 90 % de rendement en produit brut, contenant environ 50 % de phosphite de di-*n*-butyle. Par contre, en effectuant la réaction en présence de phosphite de triphényle, nous n'avons pas obtenu le (pyrrolidine-2,2-diyl)bisphosphonate de tétraphényle **92** attendu. Les produits formés n'ont pas été identifiés. Nous ne sommes pas parvenus, non plus, à réaliser le tétraphosphoré **94**.

L'utilisation de la *N*-méthylpyrrolidin-2-one en présence de phosphite de triéthyle dans les mêmes conditions opératoires conduit à de moins bons rendements (17 %) (synthèse de **93**).

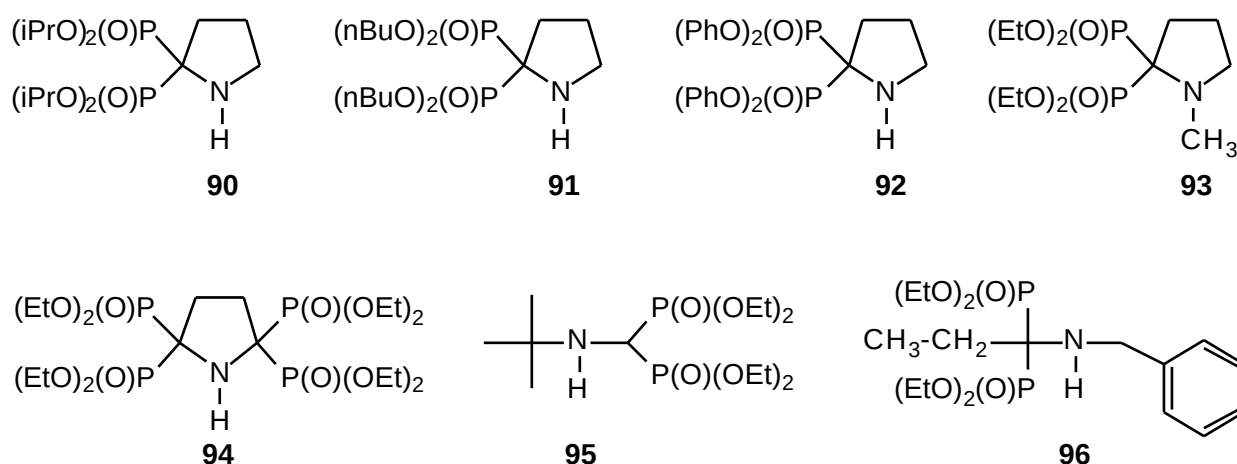


Schéma 2-72 : Diverses molécules gem-diphosphorées

Nous avons également réalisé des essais sur des amides acycliques. Nous avons alors obtenu le *N*-benzylaminopropan-1,1-ylidène bisphosphonate de tétraéthyle **96** à partir du *N*-benzylpropionamide avec un rendement en brut de 78 % et une pureté de 90 %. S. Grimaldi⁹⁵, en collaboration avec nous, a synthétisé le *N*-*tert*butylaminométhylène bisphosphonate de

tétraéthyle **95** avec un rendement de 56 % après purification, dont le mode opératoire se trouve en annexe p 267.

Grâce à l'ensemble de ces résultats, nous pouvons proposer un mécanisme pour cette réaction qui se trouvent en annexe p 268. La première étape est similaire à la première étape de la réaction de Vilsmeier-Haak⁹⁶.

Les spectres de RMN des molécules **70** et **90** présentent des caractéristiques intéressantes. Résultant d'un couplage entre les deux noyaux de phosphore chimiquement équivalents, les carbones α et β (Schéma 2-73) devraient apparaître comme des quintuplets du deuxième ordre (AA'X) dans les spectres RMN ^{13}C . Cependant, les deux lignes externes ne sont pas observées ce qui indique que $^2J_{\text{P-P}} \geq 15$ ⁹¹. Si nous considérons que $^5J_{\text{C-P}}$ est négligeable alors les valeurs des différentes constantes de couplage ont été mesurées directement à partir des triplets virtuels observés: $^2J_{\text{C}\alpha\text{P}}(^4J_{\text{C}\alpha\text{P}'}) = 5,3 \text{ Hz}$, $^2J_{\text{C}\alpha\text{P}}(^4J_{\text{C}\alpha\text{P}'}) = 5,8 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{C}\beta\text{P}} = 5,5 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{C}\beta'\text{P}} = 7,2 \text{ Hz}$ pour **70** et $^2J_{\text{C}\alpha\text{P}}(^4J_{\text{C}\alpha\text{P}'}) = 6,2 \text{ Hz}$, $^2J_{\text{C}\alpha\text{P}}(^4J_{\text{C}\alpha\text{P}'}) = 6,7 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{C}\beta_1\text{P}} = 6,2 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{C}\beta_2\text{P}} = 6,7 \text{ Hz}$ pour **90**.

Nous n'avons pas observé de couplages entre $\text{C}\beta_1$ et $\text{C}\beta_2$.

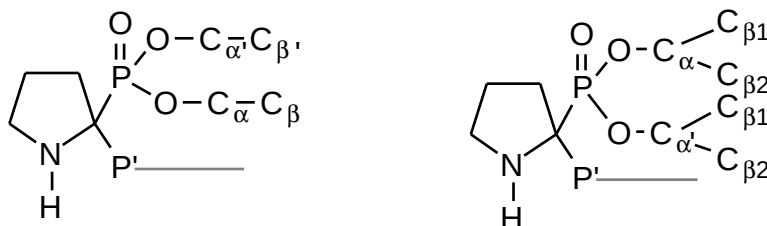


Schéma 2-73 : Découpage des atomes de carbone dans **70 et **90****

2.3.2.4. Oxydation du (pyrrolidine-2,2-diyl)bisphosphonate de tétraéthyle **70 - Synthèse du 5,5-bisdiéthoxy phosphoryl-3,4-dihydro-2H-pyrrole-1-oxyde (DPBO) **4****

La réaction a été conduite en présence de différents oxydants. Nous avons d'abord effectué une oxydation par l'acide *m*étachloroperbenzoïque dans le chloroforme ou le dichlorométhane. L'oxydation en présence de *m*-CPBA ne nous a pas permis d'obtenir la nitrone **4** correspondante. Il se produit apparemment une suroxydation accompagnée d'une ouverture du cycle telle que l'a décrite Bapat⁹⁷ (Schéma 2-74 et Schéma 2-75).

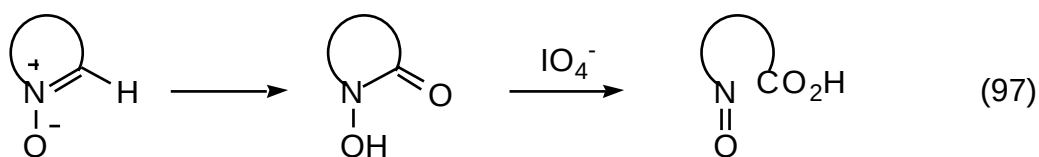
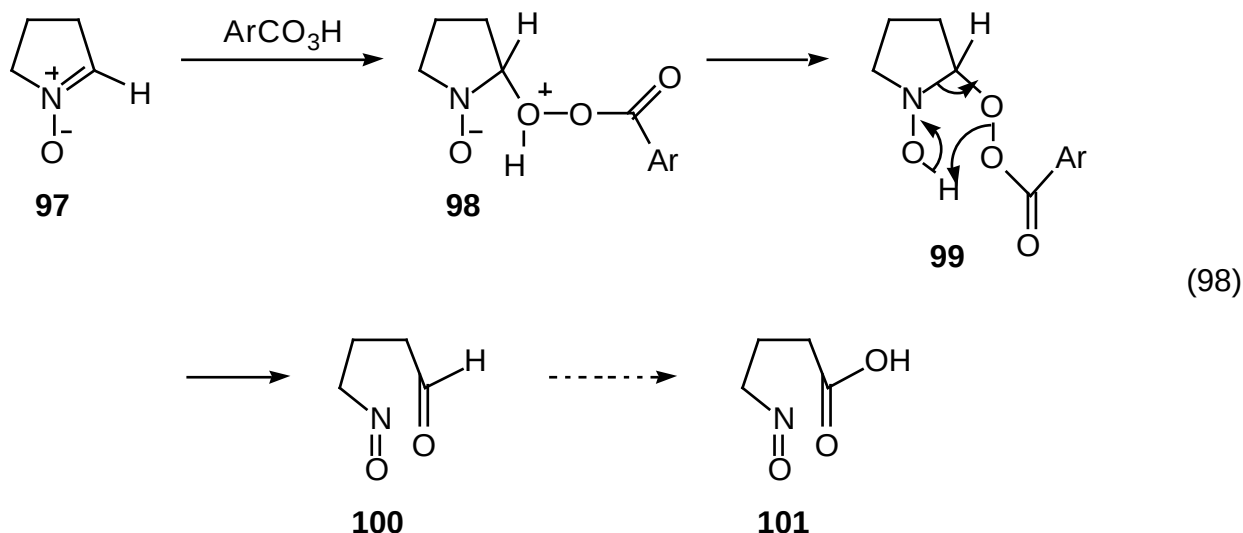


Schéma 2-74 : Oxydation des nitrones par un periodate

Schéma 2-75 : Oxydation des nitrones par l'acide *m*étachloroperbenzoïque

Les dérivés nitroso présentent une couleur bleue caractéristique, même à très faible concentration, ce qui permet de les détecter facilement. Le dérivé nitroso formé est très sensible à la lumière et produit alors des radicaux carbonés qui peuvent réagir sur une autre molécule de nitroso (§ 3.1.1.2 page 138) (Schéma 2-76).

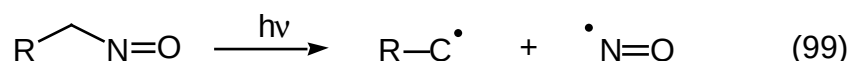
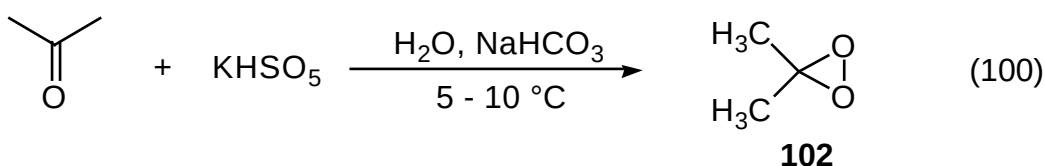


Schéma 2-76 : Réaction des dérivés nitroso avec la lumière

Nous avons ensuite tenté l'oxydation de **70** en nitronium par de l'eau oxygénée, en présence d'un catalyseur : dioxyde de sélénium ou tungstate de sodium⁹. Dans les deux cas, l'oxydation n'a pas lieu et on retrouve le produit de départ. L'utilisation du complexe urée-eau oxygénée⁹⁸⁻¹⁰⁰ se révèle également inefficace.

Nous avons alors utilisé le diméthylloxirane (DMD) **102** que nous avons préparé selon le mode opératoire de Adam¹⁰¹ (Schéma 2-77).

Schéma 2-77 : Synthèse du DMD **102**

On obtient des solutions de DMD environ 0,09 M dans l'acétone (environ 5 % de rendement). L'utilisation du DMD a été couronnée de succès : (Schéma 2-78)

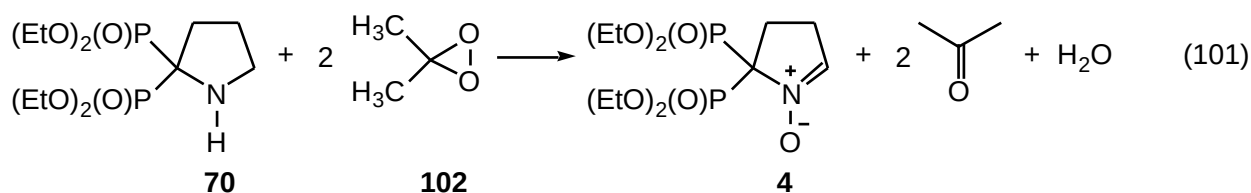


Schéma 2-78 : Oxydation de **70** par le DMD

En pratique, 1,8 équivalent de DMD suffisent pour effectuer la réaction. Après chromatographie sur couche mince préparative, le rendement en nitroxyne **4** (DPBO) est d'environ 20 %. La DPBO **4** pure n'est pas très stable (même à -20 °C) et se conserve mieux en solution dans le benzène.

Des essais effectués par Barbati au laboratoire¹⁰² montrent qu'en employant un seul équivalent de DMD, il est possible de s'arrêter au stade de l'hydroxylamine. Dans ces conditions, nous avons en effet obtenu l'hydroxylamine avec une pureté d'environ 80 %¹⁰³. Nous avons ensuite oxydé cette hydroxylamine en présence de 1,5 équivalent d'oxyde de mercure jaune selon le mode opératoire de Cicchi¹⁰⁴. Le rendement global de la réaction (à partir de la pyrrolidine **70**) est de seulement 5 % après purification par chromatographie sur couche mince.

Nous avons également préparé le DMD *in situ* en milieu biphasique en oxydant de l'acétone par l'oxone¹⁰⁵ (Schéma 2-79). Par cette méthode nous obtenons les mêmes rendements que dans le cas où on prépare une solution de DMD mais la mise en oeuvre de la réaction est beaucoup plus facile.

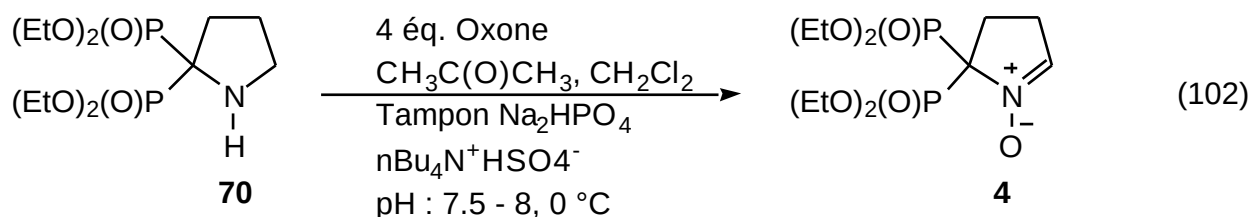


Schéma 2-79 : Réaction de Brik

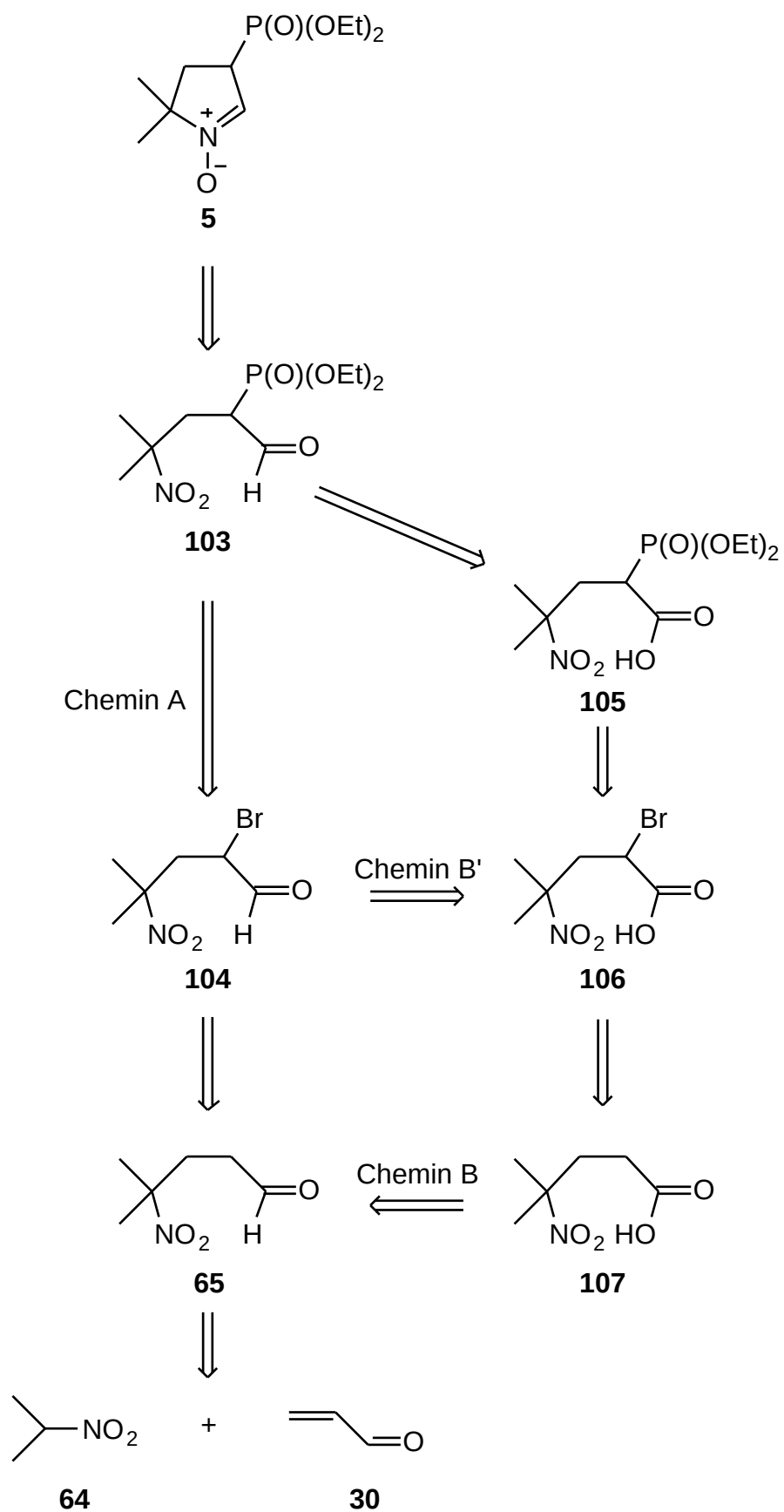
2.3.2.5. Conclusion sur la synthèse de 4

Grâce à la mise au point d'une réaction en une étape permettant d'obtenir la pyrrolidine **70** avec de bons rendements et de façon peu onéreuse, nous avons pu, malgré le faible rendement des réactions d'oxydation, obtenir la nitrone **4**. Les deux autres voies nous ont permis toutefois des études intéressantes qui sont rapportées au § 3.2.5 p 186 pour ce qui concerne l'acide (pyrrolidine-2,2-diyl)bisphosphonique **73**. La réaction présentée par Yokomatsu, bien qu'intéressante, ne fût pas généralisable dans notre cas.

2.4. SYNTHÈSE DU 2,2-DIMETHYL-4-DIETHOXYPHOSPHORYL-3,4-DIHYDRO-2H-PYRROLE-1-OXYDE (DOP-PD) 5

2.4.1. Etude bibliographique de la synthèse de 5

Pour la préparation de cette nitrone, nous avons envisagé plusieurs voies rétrosynthétiques : (Schéma 2-80 et Schéma 2-81)

Voie 1**Schéma 2-80** : Schéma rétrosynthétique faisant appel à des réactions classiques (Voie n°1)

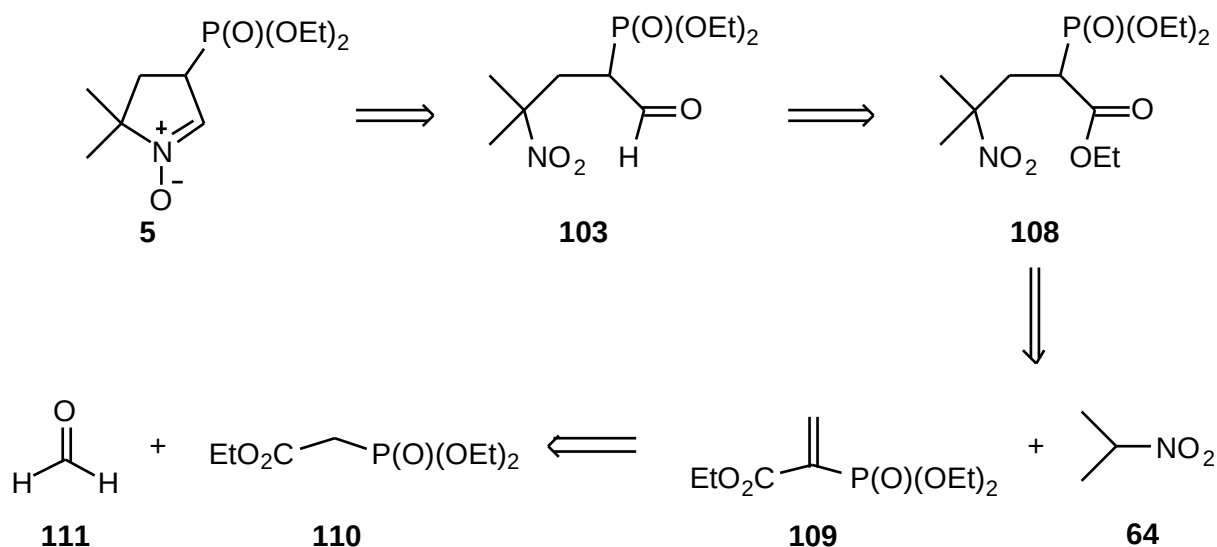
Voie 2

Schéma 2-81 : Schéma rétrosynthétique avec introduction précoce du phosphore (Voie n°2)

2.4.1.1. Via des réactions classiques (Voie n°1)

a. Synthèse du 4-méthyl-4-nitropentanal **65**

La synthèse de **65** a été décrite au paragraphe b page 66.

b. Synthèse du 2-bromo-4-méthyl-4-nitropentanal **104**

La bromation directe en α d'un aldéhyde se révèle difficile et il existe un nombre très restreint de publications traitant de ce sujet.

◆ Synthèse via un éther d'énol silylé¹⁰⁶

La réaction décrite par Reuss est la suivante : (Schéma 2-82)

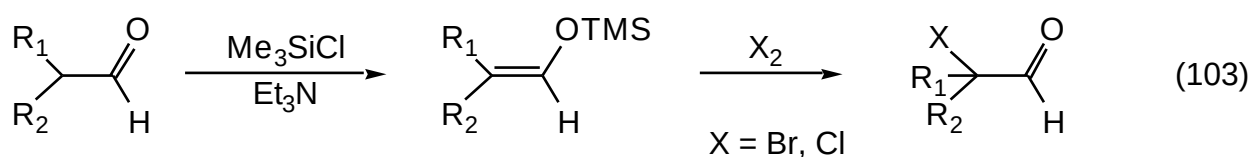


Schéma 2-82 : Réaction de Reuss

◆ *Utilisation de résine échangeuse de cations*

Bongini¹⁰⁷ utilise une résine perbromée dérivée de l'amberlyst A-26, et effectue avec celle-ci la bromation de nombreux composés avec des rendements intéressants.

◆ *Synthèse via un acétate d'énol*¹⁰⁸

Bedoukian présente un mode opératoire contenant un nombre d'étapes supérieur aux précédents (Schéma 2-83).

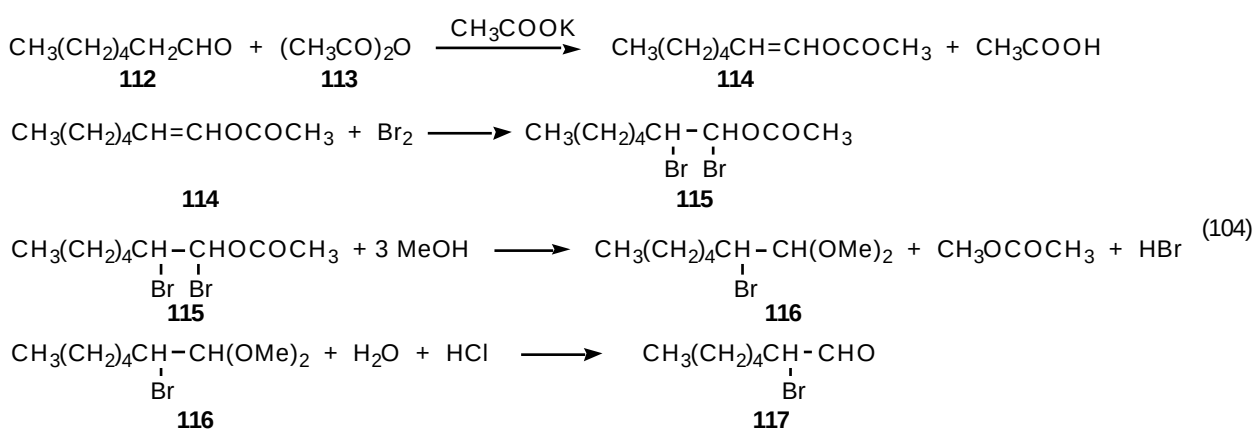


Schéma 2-83 : Bromation *via* un acétate d'énol

◆ *Utilisation du 5,5-dibromo-2,2-diméthyl-4,6-dioxo-1,3-dioxane*¹⁰⁹

Bloch propose un nouvel agent de bromation, préparé à partir de l'acide malonique *via* l'acide de Meldrum, pour les composés carbonylés saturés ou α,β -insaturés, permettant d'obtenir de meilleurs rendements et une meilleure sélectivité sans addition de catalyseur (Schéma 2-84).

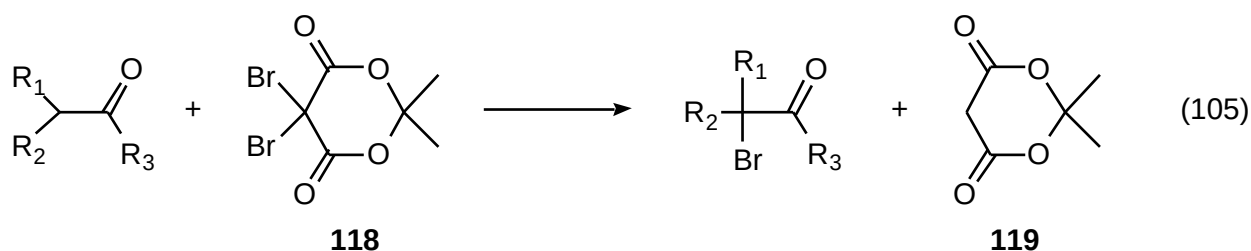


Schéma 2-84 : Bromation par l'acide de Meldrum

◆ *Bromation directe*

Chamberlin¹¹⁰ dans la synthèse de la 17 α -hydroxyprogestérone utilise une méthode de bromation simple, dans le chloroforme en présence de carbonate de calcium en poudre, et renvoie à une publication de Heilbron.

◆ *Synthèse en présence de dioxane*

Duhamel¹¹¹, après avoir constaté la difficulté à séparer le dioxane et les α -bromoaldéhydes, a mis au point une réaction dans l'éther anhydre, n'utilisant qu'une quantité catalytique de dioxane.

◆ *Synthèse en présence d'acide acétique et d'eau¹¹²*

Dans ce cas le brome est simplement additionné sur l'aldéhyde en solution dans de l'acide acétique aqueux avec un contrôle de la température.

c. Synthèse du (1-formyl-3-méthyl-3-nitrobutyl) phosphonate de diéthyle **103** par la réaction d'Arbuzov

La réaction d'Arbuzov a été décrite au paragraphe _ page 59.

d. Oxydation de **65** en acide 4-méthyl-4-nitropentanoïque **107**

Diverses méthodes d'oxydation des aldéhydes en acides existent, mais nous nous sommes limités aux méthodes faisant appel à des réactifs d'oxydation simples.

◆ *Oxydation à l'acide nitrique*

Moureu¹¹³ utilise l'acide nitrique fumant pour oxyder de petites quantités d'aldéhyde, et ne travaille en aucun cas avec de grandes quantités car une réaction explosive peut alors avoir lieu.

◆ *Utilisation de l'oxyde d'argent*

Campaigne¹¹⁴ indique une méthode utilisant l'oxyde d'argent en milieu basique, dans son cas en présence de soude, et obtient des rendements élevés.

◆ *Oxydation au permanganate de potassium / acide sulfurique*

Ruhoff¹¹⁵ présente une oxydation à l'aide de permanganate de potassium, dans un milieu contenant de l'acide sulfurique dilué. Il obtient d'aussi bons rendements que Campaigne¹¹⁴.

◆ *Oxydation au permanganate de potassium / acétone / sulfate de magnésium*

La méthode de Parrinello¹¹⁶, tout en utilisant le même réactif, le permanganate de potassium, diffère par le solvant utilisé, ici l'acétone, et par la présence de sulfate de magnésium dans le milieu.

◆ *Utilisation du N-bromosuccinimide*

La méthode utilisée par Gilman¹¹⁷ fait intervenir du *N*-bromosuccinimide, en solution dans le tétrachlorure de carbone, en milieu rendu basique par la présence d'ammoniaque.

◆ *Réactif de Jones*

De Laszlo¹¹⁸ dans une synthèse très élaborée utilise au moment de l'oxydation de l'aldéhyde le réactif de Jones.

e. Réduction de **105** en (1-formyl-3-méthyl-3-nitrobutyl) phosphonate de diéthyle **103**

Il n'existe que peu de réducteurs qui permettent de réduire de manière sélective la fonction acide en aldéhyde.

◆ *Utilisation du diborane*¹¹⁹

Brown dans ses études sur les composés borés, présente la synthèse et l'utilisation du diborane. Celui-ci permet une réaction sélective, rapide et simple, sur les fonctions carboxyliques.

◆ *Réduction à l'aide du borohydrure de lithium*¹²⁰

La préparation du réactif est simple et amplement décrite par Schlesinger, il indique que de tous les borohydrures de métaux alcalins celui de lithium donne les meilleurs résultats.

◆ *Utilisation du triméthoxyborohydrure de sodium*
[NaBH(OCH₃)₃]¹²¹

Selon Brown, ce réactif est meilleur réducteur que ceux cités précédemment et présente la plus grande stabilité.

f. Cyclisation de (4-méthyl-4-nitro-1-oxopentan-2-yl)phosphonate de diéthyle **103**

La cyclisation par réduction du groupement nitro en présence d'un groupement carbonyle a été décrite au paragraphe c page 67.

2.4.1.2. Via l'introduction précoce du groupement phosphoré (Voie n°2)

Cette voie est fondée sur l'introduction précoce du groupement phosphoré. Ainsi que le mentionne Minami¹²², les vinylphosphonates de dialkyle sont des synthons présentant une versatilité intéressante grâce aux nombreuses possibilités de greffage de groupements électroattracteurs.

a. Synthèse de l'ester carboxylique du vinylphosphonate de dialkyle

Nous ne présentons ici que les synthèses de vinylphosphonate de dialkyle portant des groupements esters ($E = CO_2R$) (Schéma 2-85).

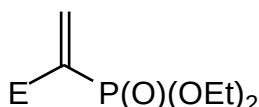


Schéma 2-85 : Formule générale des vinylphosphonates

La synthèse des vinylphosphonates de dialkyle contenant des groupements E autres que des esters carboxyliques est décrite dans la revue de Minami¹²². Nous présenterons ici deux méthodes : l'élimination oxydative d'organosulfényle ou d'organosélenyle (méthode A) et la déshydratation de β -hydroxyéthylphosphonates (méthode B).

◆ Méthode A

Heathcock¹²³ propose une synthèse utilisant le sélénium (Schéma 2-86).

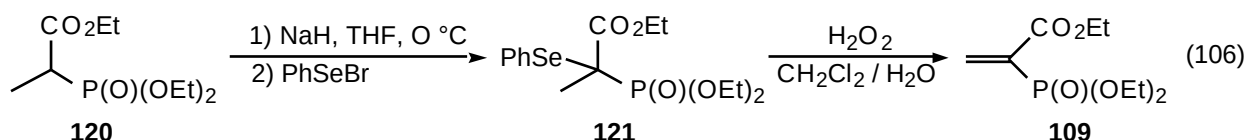


Schéma 2-86 : Synthèse des vinylphosphonates de dialkyle via un organosélenié

Le rendement global à partir de **120** est de 82 %.

En utilisant le même produit de départ, Minami¹²⁴ synthétise **109** en passant par des organosulfurés selon : (Schéma 2-87)

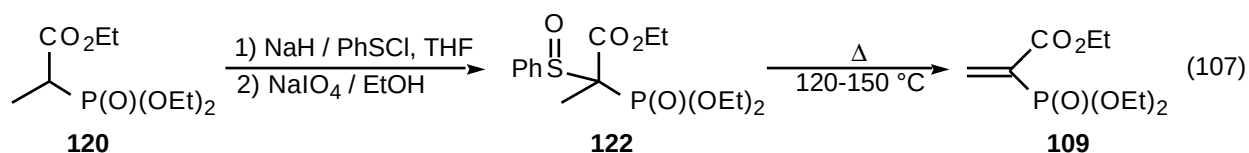


Schéma 2-87 : Synthèse des vinylphosphonates de dialkyle
via un organosulfuré

Le rendement global des deux étapes est là aussi de 82 %. Selon l'auteur l'ester peut être remplacé par un nitrile¹²⁴.

◆ Méthode B

McIntosh¹²⁵ indique une méthode classique en deux étapes pour obtenir le produit **125** désiré (Schéma 2-88).

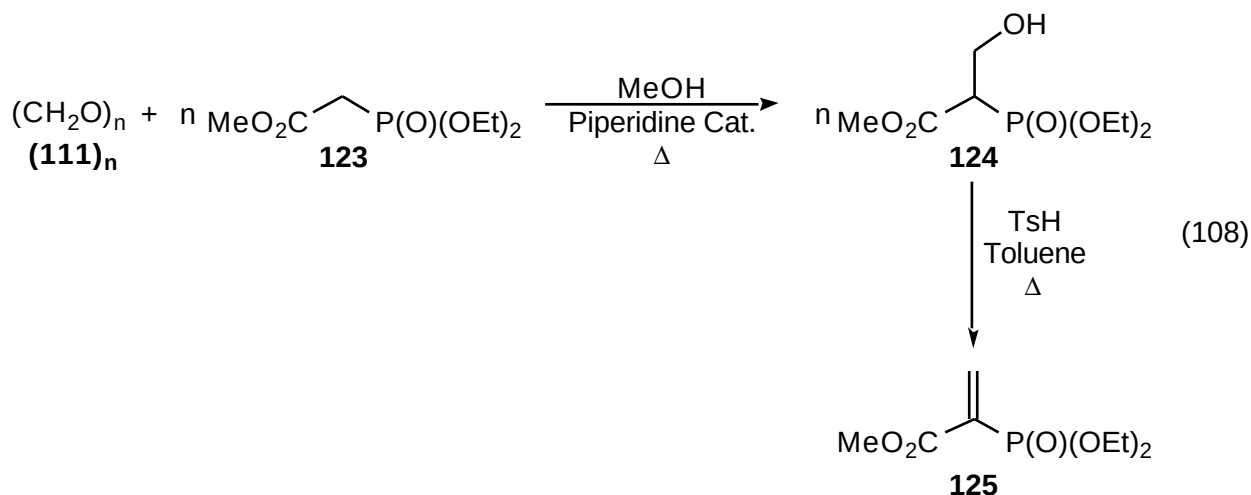


Schéma 2-88 : Synthèse des vinylphosphonates de dialkyle
via un β-hydroxyéthylphosphonate

Le rendement global des deux étapes est de 76 %. Selon McIntosh, d'autres aldéhydes peuvent être employés¹²⁵. Deux variantes expérimentales sont proposées. Semmelhack¹²⁶ propose de légères modifications par rapport à Mc Intosch (pipéridine à concentration plus élevée, utilisation d'acide phosphorique au lieu d'acide paratoluène sulfonique) mais les rendements obtenus sont plus faibles (28 % avec l'ester méthylique, 41 % pour l'ester éthylique). Taylor¹²⁷ utilise un ester silylé avec la même procédure que Semmelhack et obtient de meilleurs rendements (78 %).

b. Condensation du carbanion du 2-nitropropane

L'addition 1,4 du carbanion du 2-nitropropane a été décrite au paragraphe b de la page 66.

c. Réduction d'un ester en aldéhyde

La réduction du groupement dialcoxycarbonyl est délicate car les groupements nitro et diéthoxyphosphoryle présents dans la molécule doivent être préservés. Pour cela on doit éviter d'employer des réducteurs classiques comme l'hydruure de diisobutylaluminium ((*i*-Bu)₂AlH ou DiBAL-H) (réduction du nitro en amine¹²⁸), l'hydrogène lors d'une hydrogénation catalytique (réduction du nitro)¹²⁸, l'hydruure de lithium-aluminium (AlLiH₄) (réduction du nitro en amine¹²⁸ et réduction des phosphonates en phosphines¹²⁹ (Schéma 2-89)), l'hydruure d'aluminium (AlH₃) et l'hydruure de dichloroaluminium (AlHCl₂) (réduction des phosphonates en phosphines¹³⁰).

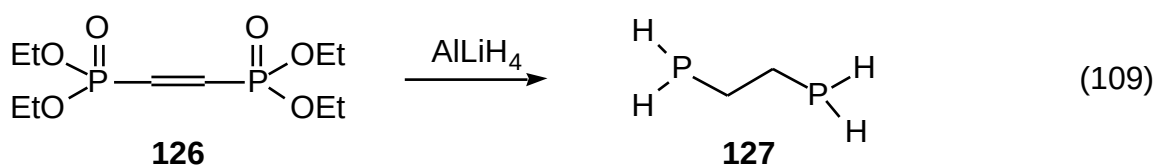
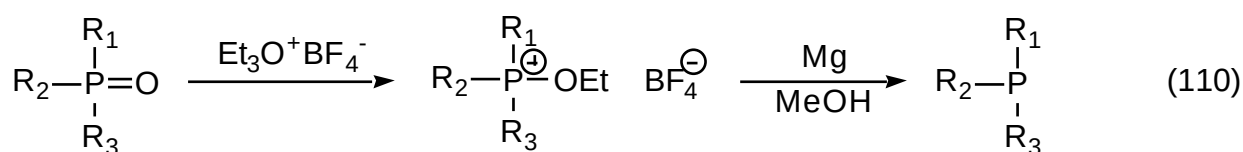


Schéma 2-89 : Réduction de phosphonate par l'hydruure de lithium-aluminium

Rhomberg et coll.¹³¹ réduisent de nombreux dérivés pentavalents du phosphore en dérivés trivalents grâce au couple tétrafluoroborate de triéthoxyxonium - magnésium (BF₄⁻Et₃O⁺ / Mg) : (Schéma 2-90)



avec : a: R₁ = R₂ = R₃ = phényle
 b: R₁ = R₂ = phényle, R₃ = O-éthyle
 c: R₁ = phényle, R₂ = R₃ = O-éthyle

Schéma 2-90 : Réduction de dérivés pentavalents du phosphore

◆ Réduction 1 : Arrêt au stade aldéhydique

Il existe très peu de publications sur ce sujet. Zakharkin¹³² propose l'utilisation d'hydruure de sodium-aluminium (NaAlH_4) à basse température selon le Schéma 2-91.

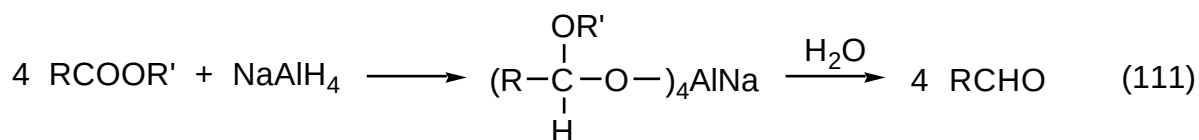


Schéma 2-91 : Réduction d'un ester en aldéhyde
par l'hydruure de sodium-aluminium

La réaction est réalisée dans le THF ou dans un mélange THF / pyridine à basse température (-65 à -45 °C). Expérimentalement, les auteurs ont constaté que les esters aromatiques doivent réagir plus longtemps et à plus basse température que les esters aliphatiques. Les rendements sont également moins bons. La réduction éventuelle d'autres groupements n'est pas indiquée.

Un article de Cha¹³³, en 1987, propose une méthode novatrice conduisant à des rendements élevés (> 90 %). Les auteurs affirment que si l'hydruure de lithium-aluminium (AlLiH_4) possède quatre équivalents en hydruure, ce qui est suffisant pour réduire l'ester en alcool, toutefois en présence d'un excès de diéthylamine, seulement un équivalent hydruure est disponible pour la réduction. Les autres hydruures (AlH_3) sont conservés dans un complexe alane-amine stable. En 1990, une correction a été publiée concernant cet article : les rendements réels varient en fait de 45 à 85 % et de plus, l'excès de diéthylamine doit être évité car il se forme un complexe d'hydruure de tris(diéthylamino) de lithium-aluminium ($\text{LiAlH}(\text{NEt}_2)_3$), non réactif. Dans les deux cas, il n'y a aucune précision sur la réduction éventuelle d'autres groupements.

En 1992, Cha¹³⁴ reprend son étude avec l'hydruure de tris(diéthylamino) de lithium-aluminium ($\text{LiAlH}(\text{NEt}_2)_3$) (LTDEA).

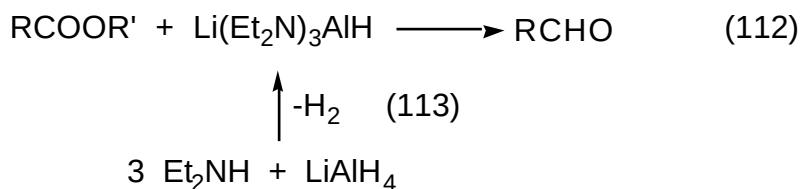


Schéma 2-92 : Réduction d'ester par LTDEA

La préparation du LTDEA se fait à 0 °C avec trois équivalents de diéthylamine dans le THF (réaction (114), Schéma 2-92). La réaction (113) est réalisée alors à -78 °C et les rendements vont de 60 à 90 %. Par cette méthode le groupement nitro du 4-nitrobenzoate d'éthyle n'est pas réduit. En 1995, les mêmes auteurs¹³⁵ proposent l'utilisation de l'hydruure de tris(diéthylamino) de sodium-aluminium (STDEA) obtenu par : (Schéma 2-93)

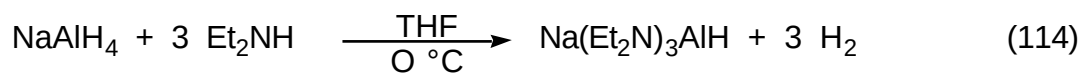


Schéma 2-93 : Synthèse du STDEA

Les rendements sont sensiblement moins bons qu'avec le LTDEA. D'après les auteurs, l'hydruure de tris(diéthylamino) de sodium-aluminium STDEA est un réducteur plus doux et donc plus sélectif que l'hydruure tris(diéthylamino) de lithium-aluminium LTDEA.

L'utilisation de dérivés aluminiques avec différents groupements contenant des amines fait l'objet d'une revue de Muraki¹³⁶. Les rendements sont variables (de 16 à 80 %) et sont fonction de la stoechiométrie ester-réactif, de l'ester et du groupement contenant l'amine (souvent une amine incluse dans un cycle à six chaînons).

En 1962, Zakharkin¹³² propose lui aussi une méthode employant un dérivé aluminique : (Schéma 2-94)

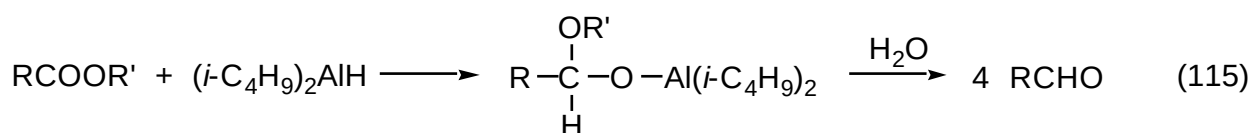


Schéma 2-94 : Réduction d'ester par le DIBAL-H

La réaction se fait à -70 °C dans le toluène, l'hexane ou l'éther diéthylique. Les rendements sont alors compris entre 48 et 90 %. Les rendements obtenus avec les esters aliphatiques sont supérieurs à ceux obtenus avec des esters aromatiques. La nature du solvant joue un rôle important : les rendements dans l'hexane ou le toluène sont de 10 à 15 % supérieurs à ceux obtenus dans l'éther diéthylique. Le groupement nitro du *p*-nitrobenzoate d'éthyle n'est pas réduit, ce qui est en contradiction avec ce qui a été dit dans l'introduction sur la réduction des esters (§ c page 100). Zakharkin¹³⁷ réduit également les esters, les amides et les nitriles en aldhyde avec le dihydrodiisobutylaluminate de sodium ($\text{NaAl}(\text{iBu})\text{H}_2$). Les rendements sont variables (de 26 à 94 %).

Brown¹³⁸ fait une étude poussée (différents substituants sur le cycle, température, stoechiométrie) sur la réduction d'esters phénoliques par l'hydruure de tri-*t*-butoxy de lithium-aluminium ($\text{LiAlH}(\text{tBuO})_3$). Les rendements sont très variables (de 0 à 80 %). L'avantage de ce réactif est d'être inerte vis à vis de plusieurs autres groupements fonctionnels. Notamment, le groupement nitro du *p*-nitrophényle n'est pas réduit dans ces conditions.

Lors de la synthèse totale et stéréospécifique de l'estrone, Bartlett¹³⁹ réduit un ester méthylique en aldéhyde par l'hydruure de bis(2-méthoxyéthoxy) de sodium-aluminium ($\text{NaAlH}_2(\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3)_2$) (Red-Al), avec un rendement de 95 % (Schéma 2-95).

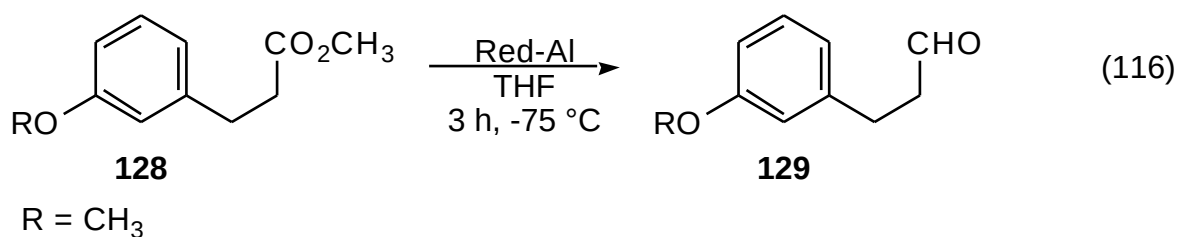


Schéma 2-95 : Réduction par le Red-Al

◆ *Réduction 2 : Réduction complète jusqu'au stade alcool*

Nous ne présentons ici que des méthodes simples, mais faisant surtout appel à des réactifs respectant les groupement nitro. Par ailleurs, ces réactifs, bien que peu de publications existent à ce sujet, ne doivent pas réduire le groupement phosphonate (comme par exemple LiBH_4 / $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ qui réduit les lactames¹⁴⁰ et pas les phosphonates).

Brown en 1982¹⁴¹ présente une étude sur l'effet du cation et du solvant dans la réduction des esters carboxyliques par les borohydrures salins. Son étude se limite aux cations lithium, sodium et calcium (LiBH_4 , NaBH_4 et $\text{Ca}(\text{BH}_4)_2$), bien que d'autres cations soient cités dans son article. Dans l'éther la réactivité décroît selon l'ordre $\text{LiBH}_4 > \text{Ca}(\text{BH}_4)_2 > \text{NaBH}_4$. Par contre dans l'éthanol l'ordre de réactivité devient $\text{Ca}(\text{BH}_4)_2 > \text{LiBH}_4 > \text{NaBH}_4$. Les réactivités de LiBH_4 dans l'éther et le THF, de $\text{Ca}(\text{BH}_4)_2$ dans le THF et le propan-2-ol et de NaBH_4 dans l'éthanol semblent intéressantes pour la réduction des esters. Cependant, les alcools ne sont pas utilisables comme solvants pour les réductions à température élevée car ils se décomposent rapidement. En utilisant les réactifs en quantité stoechiométrique on obtient rapidement les alcools correspondant aux esters.

Santaniello utilise lui aussi NaBH_4 mais cette fois dans le polyéthylèneglycol 400¹⁴². Les rendements sont supérieurs à 65 % et les groupements nitroaromatiques ne sont pas réduits dans ces conditions.

Kikugawa, en 1975¹⁴³, propose une autre fonction azotée: l'anilide. Les rendements varient de 64 à 97 %. De nombreuses fonctions ne sont pas touchées par cette procédure.

Soai¹⁴⁴ propose une fonction oxygénée à la place d'une amine pour modérer la réactivité de l'hydrure. Les auteurs effectuent la réduction d'un ester par le borohydrure de sodium en présence de 2-méthylpropan-2-ol et de méthanol. Les rendements sont supérieurs à 78 %.

- d. Cyclisation de (4-méthyl-4-nitro-1-oxopent-2-yl)phosphonate de diéthyle **103** en 2,2-diméthyl-4-diéthoxyphosphoryl-3,4-dihydro-2H-pyrrole-1-oxyde **5**

La cyclisation d'un nitroaldéhyde par réduction du groupement nitro a été décrite au § c de la page 67.

2.4.2. Résultats et discussion sur la synthèse de **5**

2.4.2.1. Via des réactions classiques (Voie n°1)

Lors de la synthèse de la molécule **103** nous avons tout d'abord suivi le schéma réactionnel A. Celui-ci s'étant avéré irréalisable, nous avons étudié une autre voie schématisée par le chemin B.

a. Voie n°1 Chemin A

Le premier chemin réactionnel utilisé est le suivant : (Schéma 2-96)

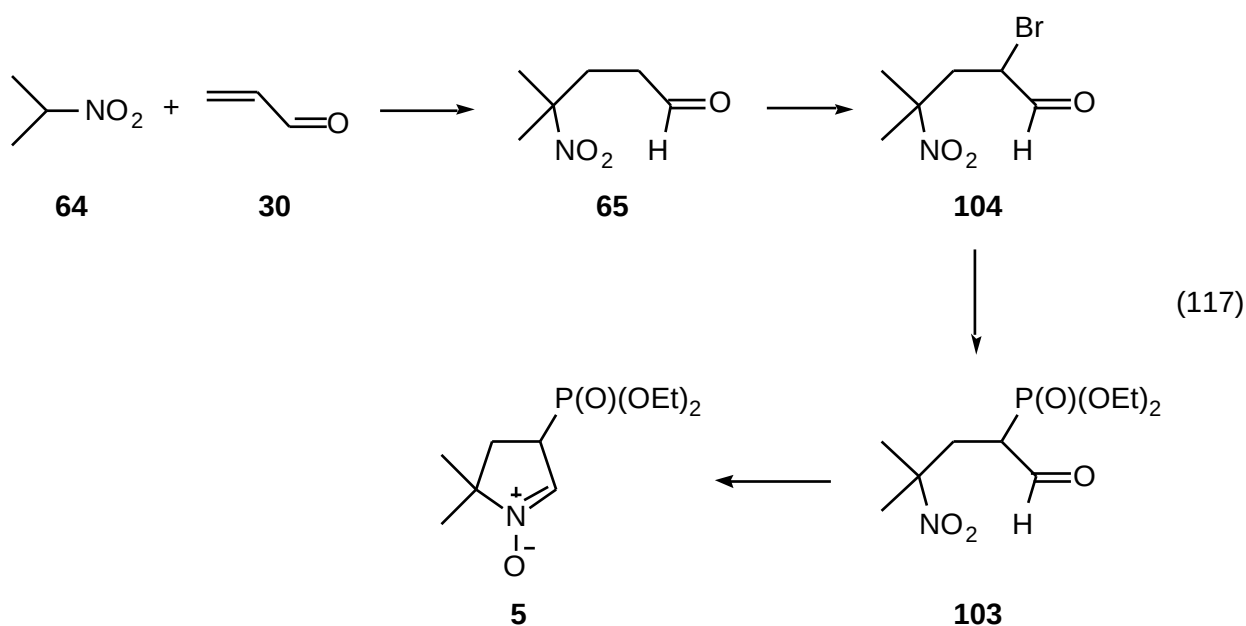


Schéma 2-96 : Synthèse de **5** voie n°1 chemin A

◆ *Synthèse du 4-méthyl-4-nitropentanal 65*

Plusieurs méthodes de condensation ont été successivement essayées, ainsi la synthèse utilisant le Triton B comme catalyseur et l'acétonitrile comme solvant n'a pas donné le résultat escompté. De même l'utilisation d'éthanolate de sodium, que l'addition ait lieu à température ambiante ou à basse température, ne conduit pas à l'aldéhyde **65** attendu, mais donne lieu à une polymérisation importante.

Nous avons finalement préparé l'aldéhyde **65** en quantité importante en utilisant la triéthylamine comme base dans l'acétonitrile et un temps de réaction d'une soixantaine d'heures⁶⁶.

◆ *Synthèse du 2-bromo-4-méthyl-4-nitropentanal 104*

La bromation est une étape délicate. Que ce soit par les méthodes utilisant le brome en présence de carbonate de calcium, de dioxane, d'acide acétique, ou encore la méthode faisant intervenir un agent bromant synthétisé à partir de l'acide de Meldrum, on n'obtient dans aucun des cas l' α -bromoaldéhyde attendu. Ces échecs nous ont conduits à abandonner cette voie de synthèse.

b. Voie n°1 Chemin B

A partir du nitroaldéhyde **65**, nous avons alors entrepris une variante faisant intervenir la bromation de l'acide **107** dérivé (Schéma 2-97).

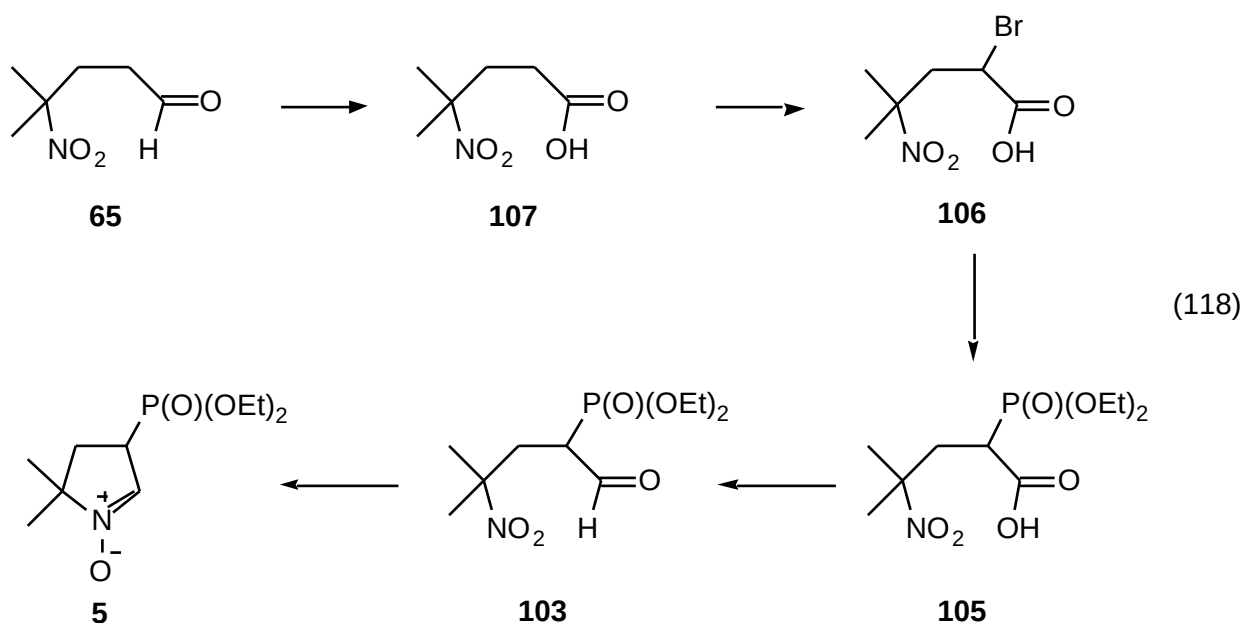


Schéma 2-97 : Synthèse de **5** voie n°1 chemin B

◆ *Oxydation du 4-méthyl-4-nitropentanal **65** en acide 4-méthyl-4-nitropentanoïque **107***

L'oxydation de l'aldéhyde **65** a été effectuée en présence de plusieurs réactifs. Les oxydants étudiés, KMnO_4 / MgSO_4 , *m*-CPBA, KMnO_4 / H_2SO_4 n'ont donné aucun résultat, c'est uniquement après l'addition d'eau dans le milieu que KMnO_4 / MgSO_4 nous a permis d'obtenir l'acide **107** attendu.

◆ *Bromation de l'acide 4-méthyl-4-nitropentanoïque **107***

La méthode de bromation utilisée a été testée avec succès sur l'acide valérique, en revanche nous ne sommes pas parvenus à bromer l'acide **107**.

L' α -bromoacide **106** n'ayant pu être préparé, nous n'avons pu poursuivre le schéma de synthèse.

c. Conclusion sur la voie n°1

Cette voie a échoué au niveau de l'étape de bromation, en α d'un aldéhyde ou d'un acide. Effectivement, seul un faible nombre de publications sont consacrées à des réactions de ce type.

2.4.2.2. Via l'introduction précoce du groupement phosphoré (Voie n°2)

Nous avons retenu le schéma suivant : (Schéma 2-98)

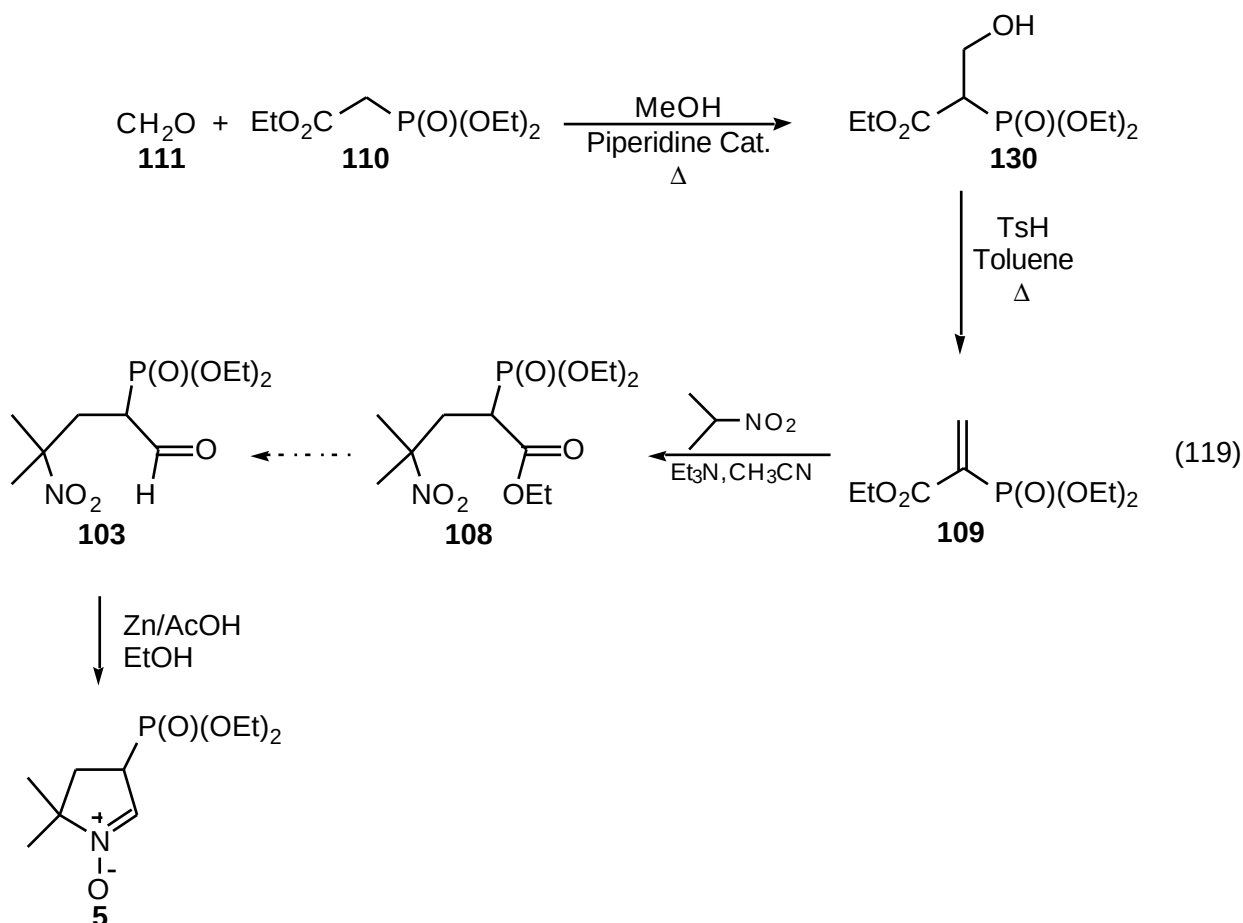


Schéma 2-98: Synthèse 5 par la voie n°2

a. Synthèse du vinylphosphonate de diéthyle **109**

Nous avons effectué la synthèse selon le mode opératoire de Taylor¹²⁷. Après dissolution du paraformaldéhyde dans du méthanol en présence de pipéridine, on ajoute à froid le diéthoxyphosphorylacétate d'éthyle **110**. On chauffe à reflux et on refroidit. Le méthanol est alors évaporé et le mélange est repris avec du toluène en présence d'acide paratoluènesulfonique dans un Deanstark, purifié par distillation. Le rendement est de 21 %. La réaction est sensible à la pureté de la pipéridine et aux proportions des différents réactifs et solvants intervenant dans la première étape.

b. Synthèse du 2-diéthoxyphosphoryl-4-méthyl-4-nitropentanoate d'éthyle **108**

L'addition d'un carbanion sur un système conjugué est une réaction classique et a été effectuée selon le mode opératoire d'Ono⁶⁶. Dans un ballon, on introduit ensemble le vinylphosphonate de diéthyle **109**, le 2-nitropropane **64** et la triéthylamine (en quantité catalytique) dans l'acétonitrile. On laisse sous agitation à température ambiante pendant 70 heures.

Après traitement classique, on obtient un rendement de 90 %. La pureté est suffisante pour la suite des opérations.

c. Réduction du 2-diéthoxyphosphoryl-4-méthyl-4-nitropentanoate d'éthyle **108**

Nous avons alors effectué nos essais sur un produit que nous avons synthétisé, le 2-diéthoxyphosphorylpentanoate d'éthyle **131** (Schéma 2-99) à partir de l'acide 2-bromovalérique. Nous avons tenté une réduction selon la méthode de Zakharkin¹³² (Schéma 2-99).

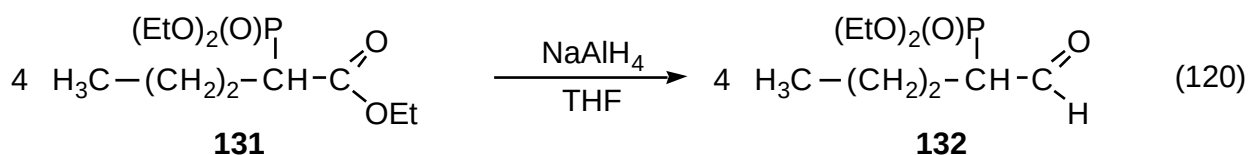


Schéma 2-99 : Réduction par NaAlH₄

Tous les essais se sont avérés infructueux et nous n'avons récupéré que les produits initiaux présentant de surcroît une odeur forte et désagréable. Nous avons essayé de réduire un produit commercial, le diéthoxyphosphorylacétate d'éthyle **110**. Là aussi nous n'avons obtenu que du produit de départ. Toutefois des essais concluants sur des esters non phosphorés (propanoate de méthyle, lévulinate de méthyle) donnent de bons résultats.

Nous avons aussi essayé d'utiliser une réduction cyclisante par du borure de nickel. Nous avons utilisé sans succès le mode opératoire décrit par Osby¹⁴⁵. Nous n'avons pas pu caractériser la lactone attendue, car le nombre de produits formés est assez important. Ce fut le même cas lorsque nous avons voulu obtenir la même lactone par réduction du groupement nitro en amine par du formiate d'ammonium avec du palladium sur charbon en quantité catalytique¹⁴⁶.

d. Autres voies d'approche

Nous avons donc tenté d'utiliser le formylméthylphosphonate de diéthyle à la place de l'ester **151**. Sa synthèse est décrite par Gryszkiewicz-Trochimowski¹⁴⁷. Il est obtenu avec un rendement de 41 % avec une bonne pureté d'après les analyses RMN ¹H, ¹³C et ³¹P.

Nous avons alors appliqué le mode opératoire de Taylor¹²⁷. Dès la première étape, on obtient un nombre élevé de produits (plus de 10 pics entre 24 et 25 ppm en RMN ³¹P, environ 30 produits d'après la CCM). Dans les deux cas nous n'avons pu identifier le produit attendu.

e. Conclusion Voie n°2

L'intérêt de cette voie consistait en l'introduction précoce du groupement diéthoxyphosphoryle et permettait d'éviter l'étape de bromation en α d'un aldéhyde ou d'un acide. Toutefois, nous ne sommes pas parvenus à effectuer la réduction de l'ester carboxylique, qui se fait généralement avec de bons rendements. Par ailleurs, les vinylphosphonates de dialkyle (Schéma 2-85) substitués par des groupements électroattracteurs ($E = -CO_2R, -CHO$) ont une forte tendance à la polymérisation, comme l'acroléine ou les acrylates.

2.4.3. Conclusion sur la synthèse du 2,2-diméthyl-4-diéthoxyphosphoryl-3,4-dihydro-2H-pyrrole-1-oxyle 5 (DOP-PD)

Malgré nos différents essais nous n'avons pas obtenu la molécule cible **5**. Les différentes voies de synthèse testées n'ayant pas permis d'obtenir le nitroaldéhyde **103**. Il est à noter que nous avons rencontré des problèmes lors de la mise en oeuvre de réactions "simples" (bromation ou réduction), bien que dans les deux cas il n'existe que peu de publications. Bien que les réductions d'ester soient en général faciles, la présence du groupement phosphoré en position α semble empêcher la réaction (il pourrait s'agir d'un phénomène lié à l'encombrement stérique qui gênerait l'approche du réducteur).

Une troisième voie passant par une énamine a été envisagée (Schéma 2-100), mais nous n'avons pu l'entreprendre par manque de temps.

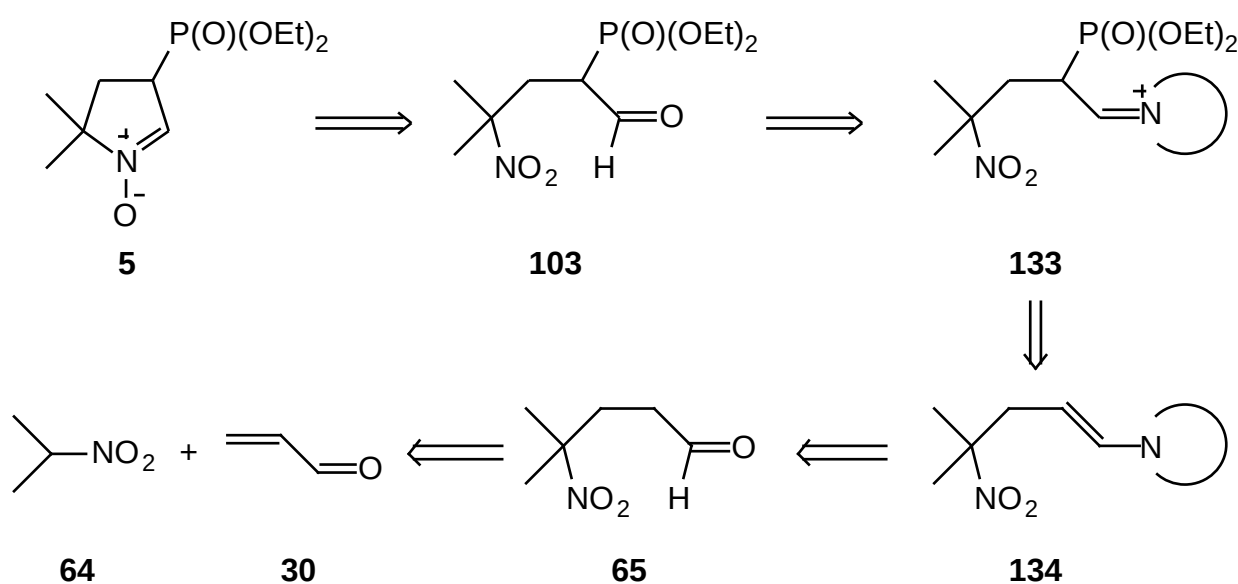


Schéma 2-100 : Rétrosynthèse de **5** passant par une énamine

2.5.SYNTHESE DU 2- DIETHOXYPHOSPHORYL-2-METHYL-5- PHENYL-3,4-DIHYDRO-2H-PYRROLE-1- OXYDE (DEPMPO-Ph) 6

2.5.1.Etude bibliographique de la synthèse de 6

Dans la DEPMPO 2, la présence du groupement phosphoré en position 5 induit une augmentation importante de la persistance de l'adduit du superoxyde^{12,56,148-150}. Par ailleurs, dans des articles assez récents^{151,152}, Janzen signale également une augmentation de la stabilité de cet adduit pour des nitrones portant un groupement phényle en position 5. Nous avons essayé de préparer et tester une nitronne portant à la fois un groupement phényle en position 5 et un groupement diéthoxyphosphoryle en position 2. Là aussi nous avons envisagé deux schémas rétrosynthétiques (Schéma 2-101 et Schéma 2-102).

Voie 1

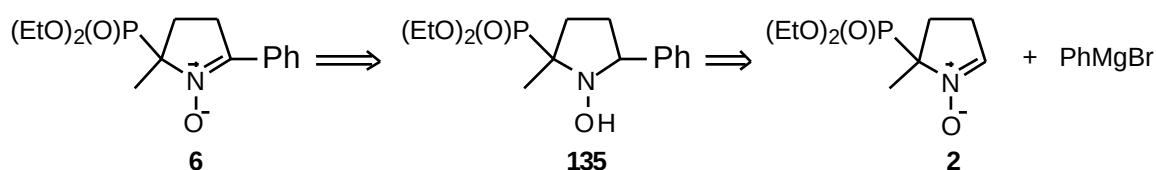


Schéma 2-101 : Schéma rétrosynthétique par addition d'un d'un organomagnésien

Voie 2

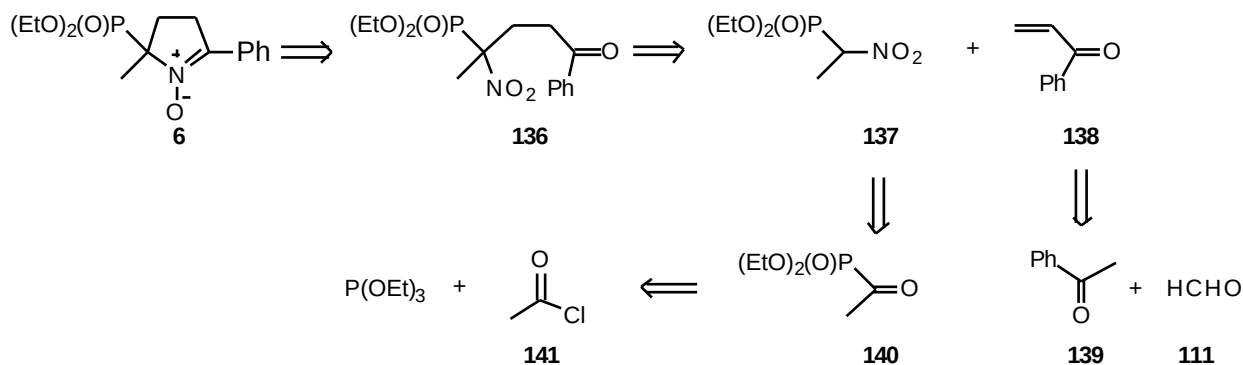
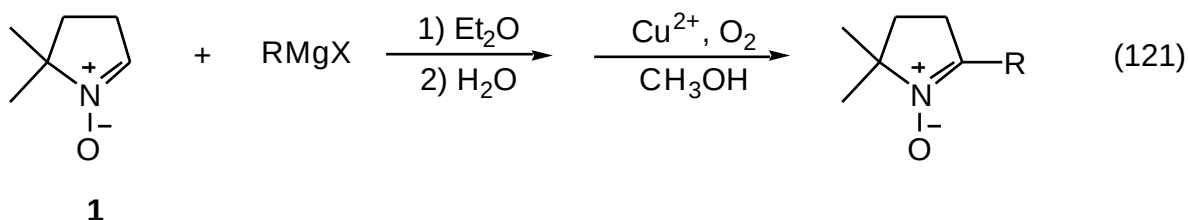


Schéma 2-102 : Schéma rétrosynthétique par réactions classiques

2.5.1.1. Via l'addition d'un organomagnésien (Voie n°1) (Schéma 2-101)

Il s'agit d'une voie classique de synthèse de nitrones substituées en position 5¹⁵¹⁻¹⁵³ : (Schéma 2-103)



avec : R = C(CH₃)₃, C₆H₅, C₆D₅, C₆H₅ (nitronyl ¹³C), 4F-C₆H₄, 4Cl-C₆H₄,
4(CH₃)₃C-C₆H₄, 4CH₃-C₆H₄, 2CH₃-C₆H₄

Schéma 2-103 : Addition d'organomagnésien sur la DMPO

L'oxydation de l'hydroxylamine intermédiaire s'effectue simplement par utilisation de l'oxygène de l'air en présence de catalyseur cuivrique. Par cette méthode Janzen obtient différentes nitrones avec des rendements variant entre 22 et 92 %. Cette méthode est à rapprocher de celle employée par Stipa (§ a page 62).

2.5.1.2. Via la réduction d'un groupement nitro (Voie n°2) (Schéma 2-102)

C'est une voie plus classique.

a. Synthèse de la phénylvinylcétone **138**

Il existe un grand nombre de publications sur la synthèse de cette molécule.

◆ Passage par une dicétolactone

A partir du 3,4-dialkyl-2,4-dioxobutanoate d'éthyle, Ksander¹⁵⁴ réalise la réaction suivante : (Schéma 2-104)

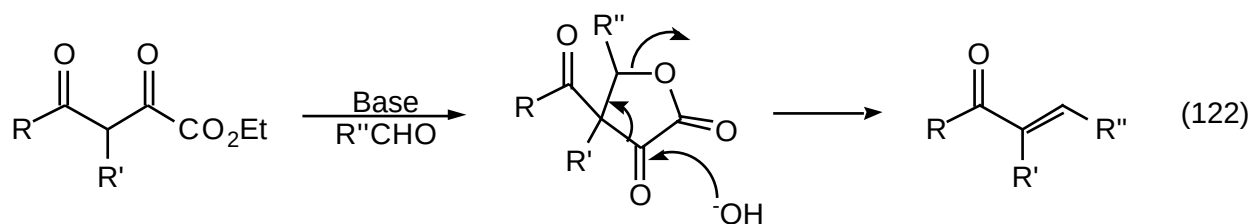


Schéma 2-104 : Via une dicétolactone

Cette méthode, efficace dans de nombreux cas n'est pas adaptée au cas où $R' = H$, probablement à cause de la formation d'un sel. Dans cette publication Ksander propose une modification par la réaction schématisée ci-dessous (Schéma 2-105), pour la première fois à partir d'une méthylcétone.

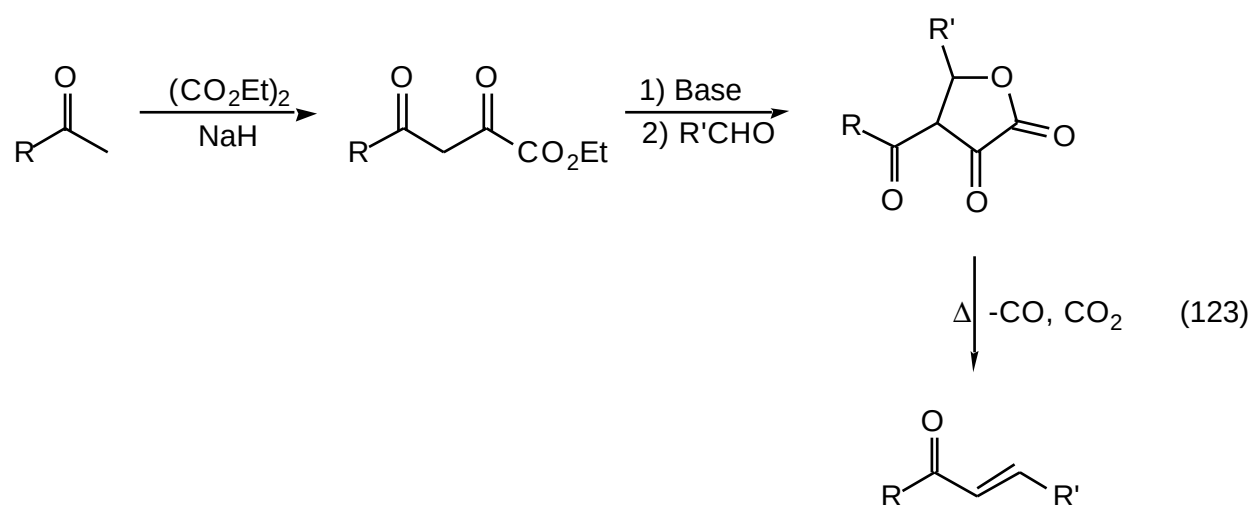


Schéma 2-105 : Utilisation d'une méthylcétone

Dans le cas où $R = Ph$ et $R' = H$, c'est-à-dire la phénylvinylcétone, le rendement est de 49 % à partir de l'acétophénone. La deuxième étape se fait à 620 °C dans un tube en quartz balayé par un gaz inerte.

◆ *Obtention d'une vinylcétone à partir d'un acide carboxylique et de vinylolithium*

Dans ce cas les matériaux de départ sont simples à obtenir : un acide carboxylique (en principe molécule facile à synthétiser ou commerciale) et le vinylolithium commercial. L'auteur¹⁵⁵ indique que la réaction est généralisable. Les acides aromatiques et aliphatiques réagissent avec le vinylolithium avec généralement de bons rendements (86 % dans le cas de la phénylvinylcétone).

◆ Utilisation de micro-ondes

L'équipe de Strauss utilise un générateur continu de micro-ondes¹⁵⁶. Le principe est l'utilisation d'un four micro-ondes sous forte pression (jusqu'à 1400 kPa) et température élevée (jusqu'à 200 °C). Toutes les réactions de la chimie organique (substitution, addition, etc ...) peuvent être réalisées en un temps relativement court (inférieur dans tous les cas à 2 mn) avec des rendements variables (entre 18 et 100 %). Dans le cas de la synthèse de la phénylvinylcétone, la réaction effectuée est une élimination habituellement obtenue par pyrolyse (voir la synthèse du précurseur et la pyrolyse au § _ page 116 ou dans le Vogel's¹⁵⁷) : (Schéma 2-106)

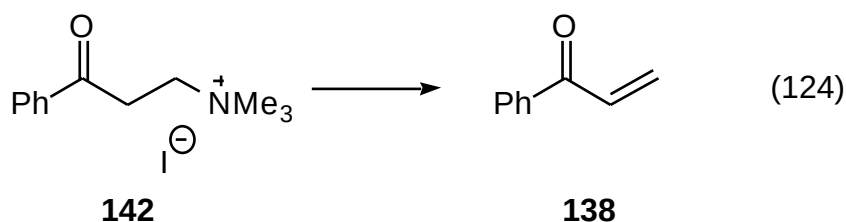


Schéma 2-106 : Elimination d'ammonium activée par microondes

Les conditions de la réaction sous micro-ondes sont alors : température = 90-95 °C, pression moyenne = 100 kPa, temps de réaction = 1,6 mn.

Le rendement dans ces conditions est de 96 %. C'est une méthode innovante, rapide mais dont la mise en oeuvre fait appel à un matériel relativement lourd et nécessite une certaine expérience de ce type de réactions.

◆ Utilisation d'organosélénures

Le principe de base est l'élimination d'un organosélénure comme groupement libérable. Le chemin réactionnel est du type^{158,159} : (Schéma 2-107)

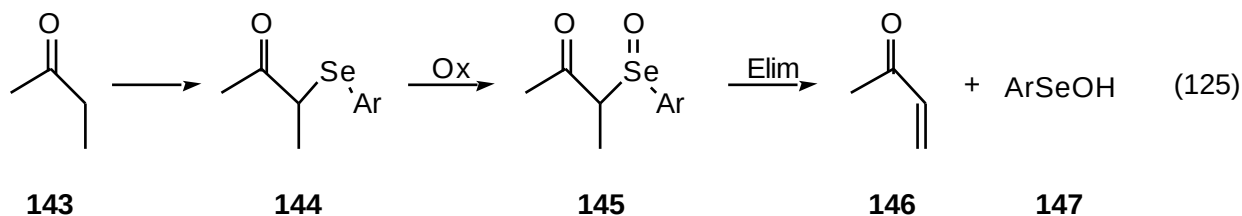


Schéma 2-107 : Bilan de la réaction d'organosélénures

Il existe plusieurs façons d'introduire le sélénium : (Schéma 2-108 et Schéma 2-109)

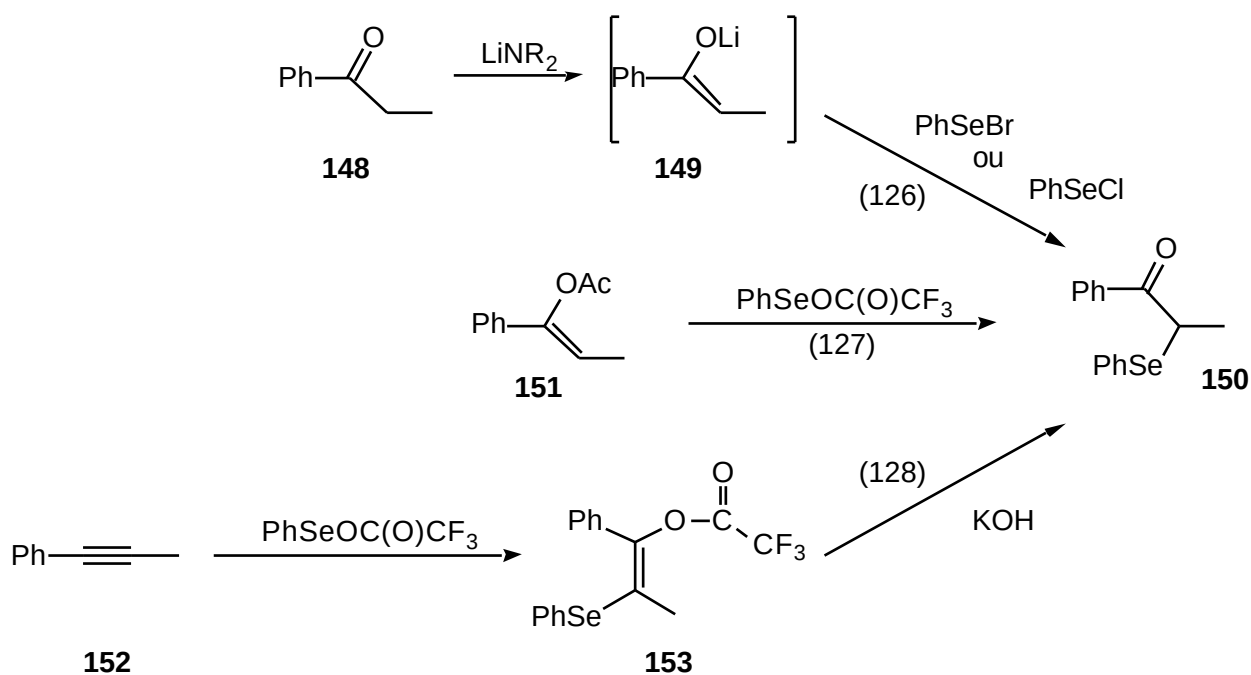


Schéma 2-108 : Différentes façons d'introduire le sélénium

ou

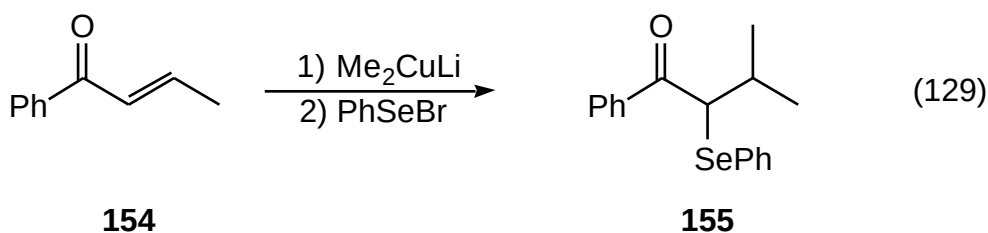
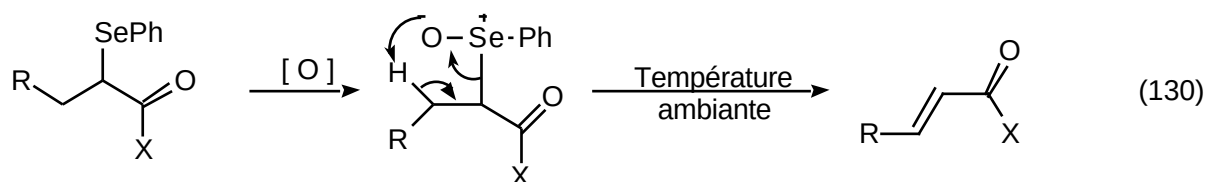


Schéma 2-109 : Autre façon d'introduire le sélénium

Il existe plusieurs méthodes d'oxydation : eau oxygénée, eau oxygénée biphasique, ozone, periodate de sodium, *m*-CPBA, etc ...

Le mécanisme de la dernière étape (syn-élimination) est décrit par Sharpless¹⁶⁰ : (Schéma 2-110)



$\text{X} = \text{H}, \text{alkyle ou alkoxy}$
 $\text{R} = \text{Ph}, \text{CH}_3, n\text{-C}_9\text{H}_{19}$

Schéma 2-110 : Syn-élimination du groupement sélénié

Dans le cas de la phénylvinylcétone, Reich^{158,159} indique 78 % de rendement. Sharpless décrit également cette réaction sur des cétones ou des esters sans toutefois citer le cas de la phénylvinylcétone.

◆ *Réaction chélotropique de vinylogue d'énollactone*

La thermolyse en phase gazeuse au-dessus de 220 °C de 2(3*H*)-oxepinones et 2(3*H*)-furanones donne du monoxyde de carbone et des produits carbonylés insaturés. Cette réaction appliquée par Skouanetz¹⁶¹ peut être représentée par les deux schémas ci-dessous : (Schéma 2-111 et Schéma 2-112)

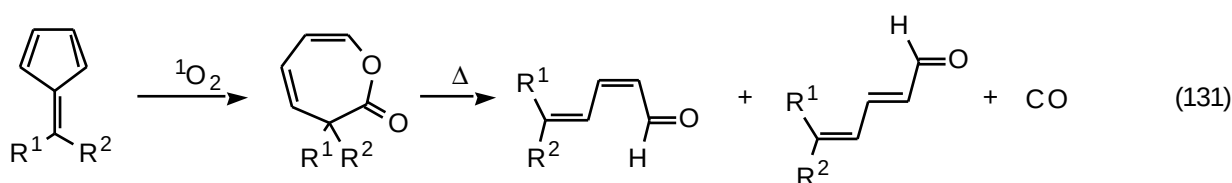


Schéma 2-111 : Via vinylogue d'énollactone

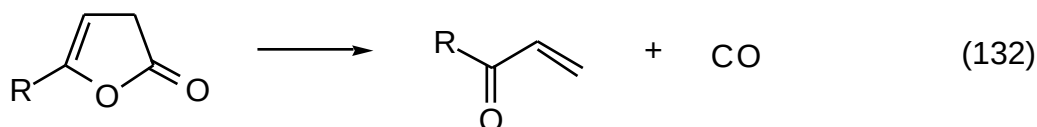
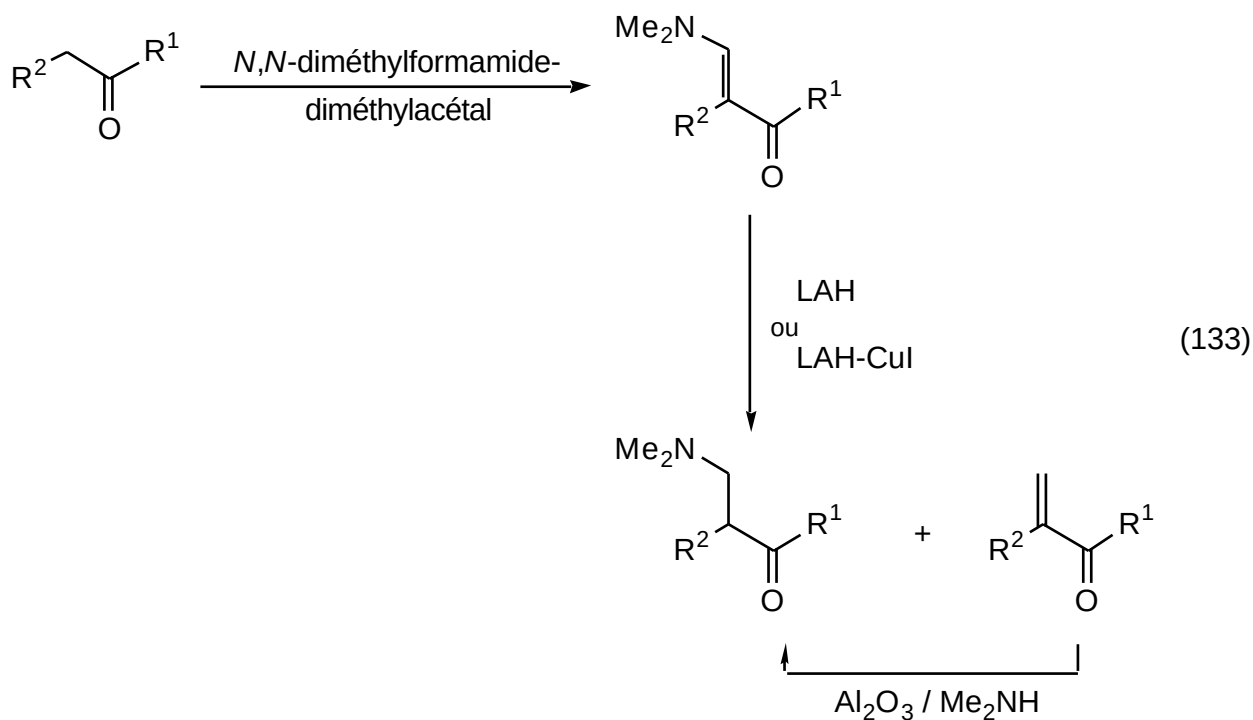


Schéma 2-112 : Via vinylogue d'énollactone

Dans le cas de la phénylvinylcétone, la réaction se fait à 450 °C sous azote à pression normale avec un rendement de 94 %.

◆ *Obtention de la phénylvinylcétone comme sous-produit lors de la synthèse de β -aminocétone*

Lors de la synthèse de β -aminocétone, notamment par réduction d'énaminones, Dominguez¹⁶², obtient la phénylvinylcétone comme produit secondaire. On peut résumer cette synthèse de la façon suivante : (Schéma 2-113)

Schéma 2-113 : Via une β -aminocétone

Pour $R^1 = \text{Ph}$ et $R^2 = \text{H}$ le rendement de la première étape est de 80 %. Les rendements de la réduction sont résumés au Tableau 2-1.

	β -aminocétone /%	Phénylvinylcétone /%
LAH - CuI	50	10
LAH	60	9

Tableau 2-1 : Rendement de la réaction (133) (Schéma 2-113)

◆ Via une réaction de Mannich et le chlorhydrate de la 3-diméthylamino-1-phénylpropan-1-one **158**

La synthèse du chlorhydrate de la 3-diméthylamino-1-phénylpropan-1-one **158** est décrite dans le Vogel's¹⁵⁷ et dans Organic Syntheses Collective Volume¹⁶³. Le rendement est de 90 %. La réaction se fait *via* une addition de Mannich que l'on peut résumer de la façon suivante : (Schéma 2-114)

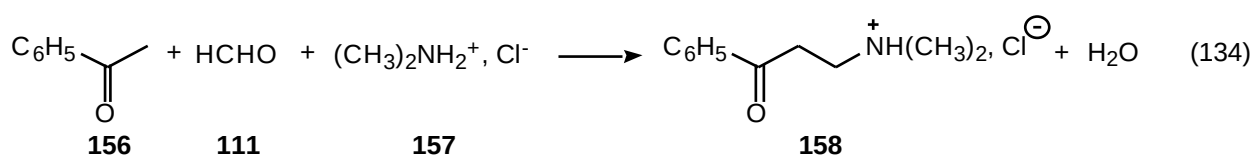


Schéma 2-114 : Réaction de Mannich

Pour obtenir la phénylvinylcétone, deux méthodes d'élimination sont possibles.

* Méthode A¹⁶⁴

Les auteurs utilisent une méthode douce. En premier, ils effectuent sur **158** un traitement avec une solution aqueuse de carbonate de sodium pour obtenir l'aminocétone libre. Cette amine libre réagit avec l'iodométhane dans l'éther puis est traitée par du carbonate de potassium aqueux en milieu biphasique à température ambiante. Le rendement est de 54 %.

* Méthode B¹⁵⁷

C'est une pyrolyse sous pression réduite (266 Pa) en présence d'hydroquinone. Le rendement est de 51 %.

b. Synthèse du 1-nitroéthylphosphonate de diéthyle

La réaction a été décrite par Zòn⁵⁹ et s'effectue en trois étapes. Ces trois étapes sont des réactions simples de la chimie organique : réaction d'Arbuzov, synthèse d'une oxime suivie de son oxydation en nitro. Ces trois réactions sont représentées au Schéma 2-115 :

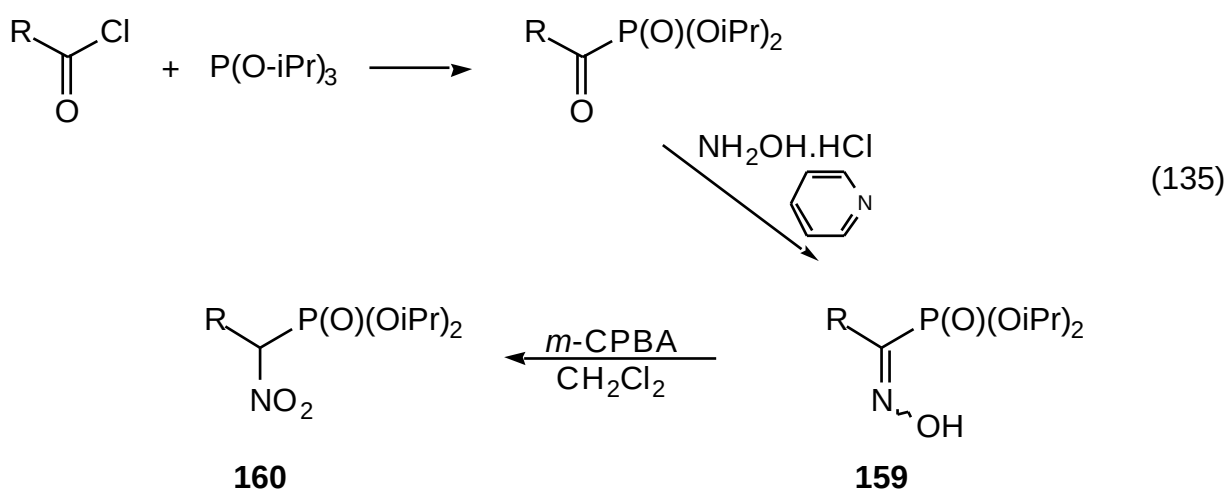


Schéma 2-115 : Réaction de Zòn

Les rendements de la réaction de Zòn sont présentés dans le Tableau 2-2.

R	159 /%	160 /%
CH ₃	68	50
C ₂ H ₅	65	65
C ₆ H ₅ CH ₂	70	60

Tableau 2-2 : Rendement de la réaction (135)

c. Addition de Michael

L'addition de Michael entre un carbanion nitré et une cétone α,β -éthylénique a déjà été décrite au paragraphe b de la page 66.

d. Cyclisation et synthèse de la DEPMPO-Ph **6**

La cyclisation de dérivés nitro-carbonylé par réduction du groupement nitro est décrite au § c page 67.

2.5.2. Résultats et Discussion sur la synthèse de 6

2.5.2.1. Via l'addition d'un organomagnésien (Voie n°1)

La voie que nous avons retenue est schématisée ci-dessous : (Schéma 2-116)

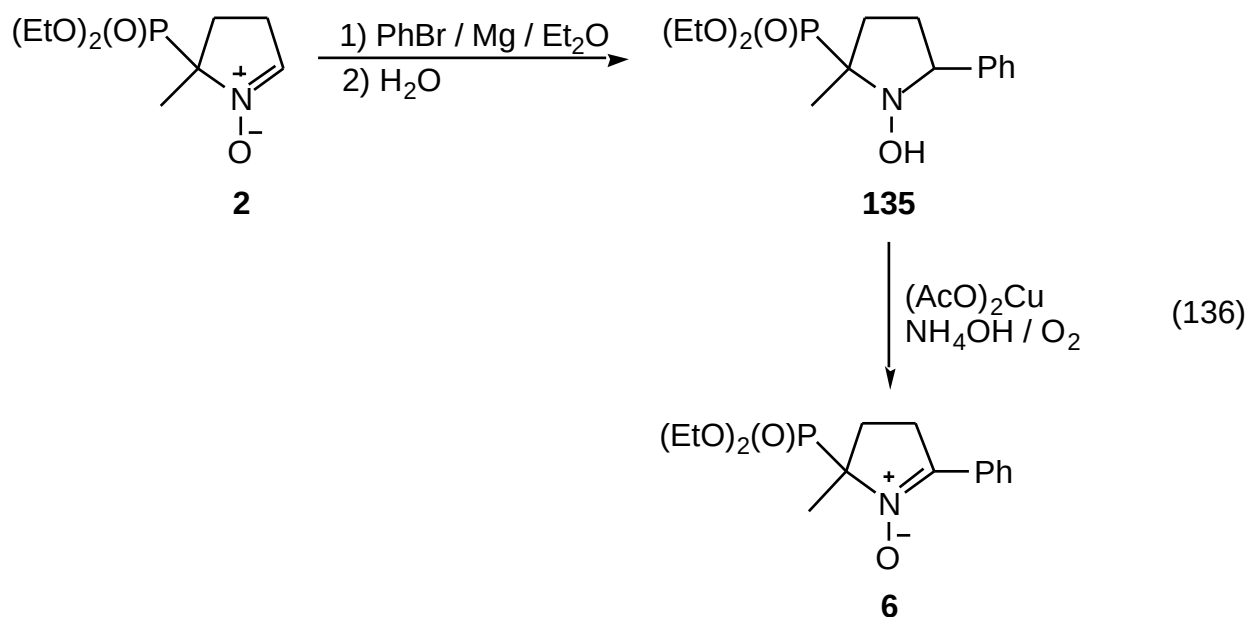


Schéma 2-116 : Schéma de synthèse de 6
via l'addition d'un organomagnésien

Nous avons d'abord essayé le schéma de synthèse décrit par Janzen^{151,152} pour préparer la DMPO-Ph. La nitroène phénylée correspondante a été obtenue mais avec un faible rendement. Par contre lors de la réaction d'addition du magnésien sur la DEPMPO on obtient un mélange de produits (9 pics en RMN ³¹P) dans lequel 135 n'a pu être identifié. Bien qu'ayant procédé à l'oxydation de ce brut réactionnel, nous ne sommes pas parvenus, malgré une analyse CCM poussée à identifier la DEPMPO-Ph.

Cette voie a été abandonnée au profit d'une voie de synthèse plus classique.

En conclusion sur la voie 1, nous pouvons dire que nous avons échoué au même endroit que Stipa (voir à p 62), bien que ce genre de réaction soit utilisé couramment pour obtenir d'autres nitrones.

2.5.2.2. Via la réduction d'un groupement nitro (Voie n°2)

Nous avons effectué une synthèse convergente : (Schéma 2-117)

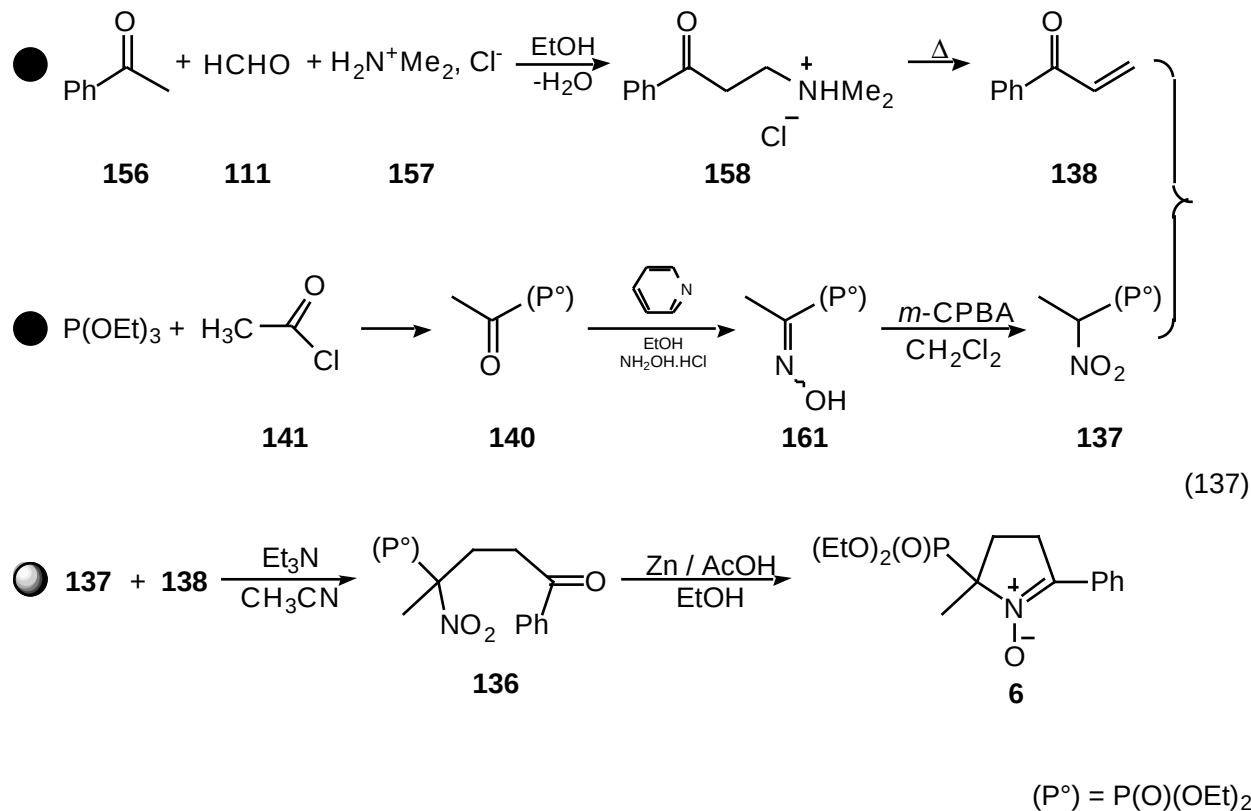


Schéma 2-117 : Schéma de synthèse de **6**
via des réactions classiques

a. Synthèse de la phénylvinylcétone **138**

Nous avons en premier tenté d'obtenir **138** par oxydation de l'alcool allylique obtenu par addition du bromure de phénylmagnésium sur l'acroléine. Lors de l'oxydation, nous n'avons pas pu purifier **138**. Nous avons donc opté pour une synthèse faite en deux étapes :

- obtention du chlorhydrate de la 3-diméthylamino-1-phénylpropan-1-one **158**
- synthèse à partir de **158** de la phénylvinylcétone

158 est obtenu avec un rendement satisfaisant (65 %) ¹⁵⁷. On chauffe à reflux pendant deux heures une solution de chlorhydrate de diméthylamine, de paraformaldéhyde, d'acétophénone dans l'éthanol et d'acide chlorhydrique concentré. La cristallisation s'effectue dans l'acétone, à froid (+4 °C).

Nous avons successivement testé deux méthodes pour la préparation de la phénylvinylcétone.

◆ *Méthode A (condition douce)*¹⁶⁴

Cette méthode passe par une élimination d'Hoffman sur une amine quaternaire. Dans une première étape, on obtient l'amine libre en milieu basique : (Schéma 2-118)

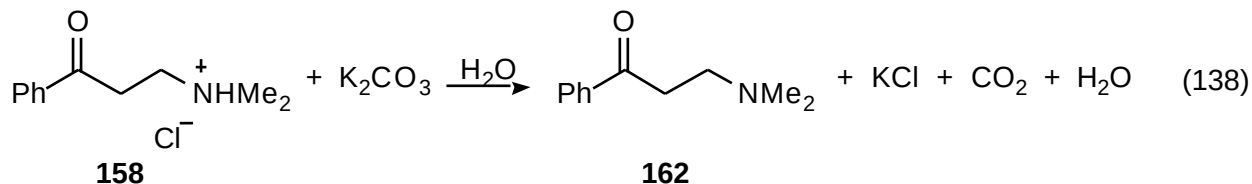


Schéma 2-118 : Obtention d'une amine libre

La deuxième étape consiste en la quaternisation de l'amine, suivie de l'élimination en milieu basique : (Schéma 2-119)

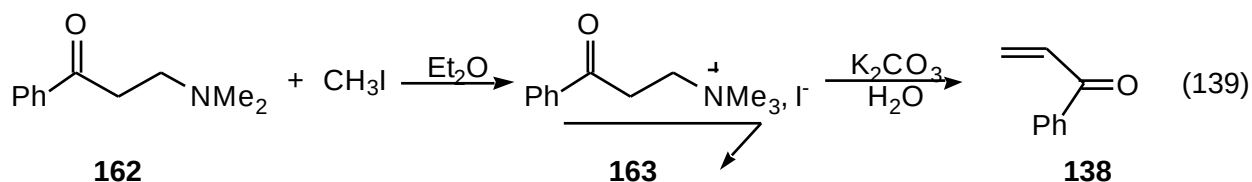


Schéma 2-119 : Phénylvinylcétone à partir de **162**

Le résultat total est décevant car la phénylvinylcétone est obtenue avec une pureté médiocre et un rendement très faible (inférieur à 5 %).

◆ *Méthode B (pyrolyse)*¹⁵⁷

La réaction est simple, on chauffe à 200 °C sous 200 Pa les cristaux de **158**. On ne conserve que le distillat passant entre 62 et 77 °C. On obtient un produit pur en RMN et le rendement est de 40 %.

b. Synthèse du 1-nitroéthylphosphonate de diéthyle **137**

Le mode opératoire est voisin de celui décrit par Zòn⁵⁹ mais nous avons utilisé du phosphite de triéthyle au lieu de phosphite de triisopropyle. La première étape se fait dans un seul ballon (Schéma 2-120).

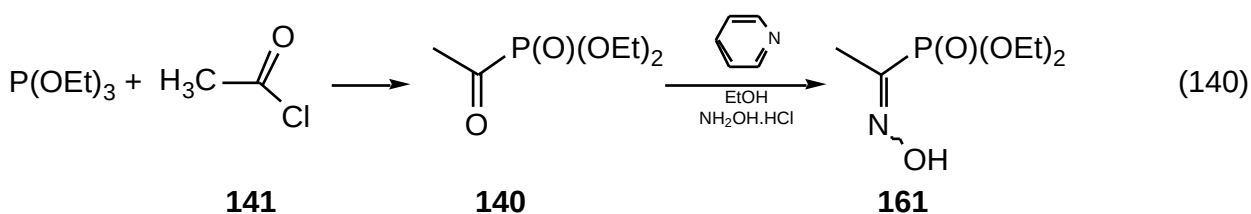


Schéma 2-120 : Première étape de la réaction de Zòn

Après traitement classique acido-basique, l'oxime est obtenue avec un rendement de 79 % et une pureté suffisante pour être utilisée directement dans l'étape suivante. L'oxydation est réalisée en laissant sous agitation magnétique pendant trois jours une solution d'oxime **161** et d'acide *méto*-chloroperbenzoïque dans le dichlorométhane. Le rendement de l'oxydation est de 60 % avec une bonne pureté (95 %).

c. Synthèse du (2-nitro-5-oxo-5-phénylpentan-2-yl)phosphonate de diéthyle **136**

On peut résumer l'addition de Michael de la façon suivante : (Schéma 2-121)

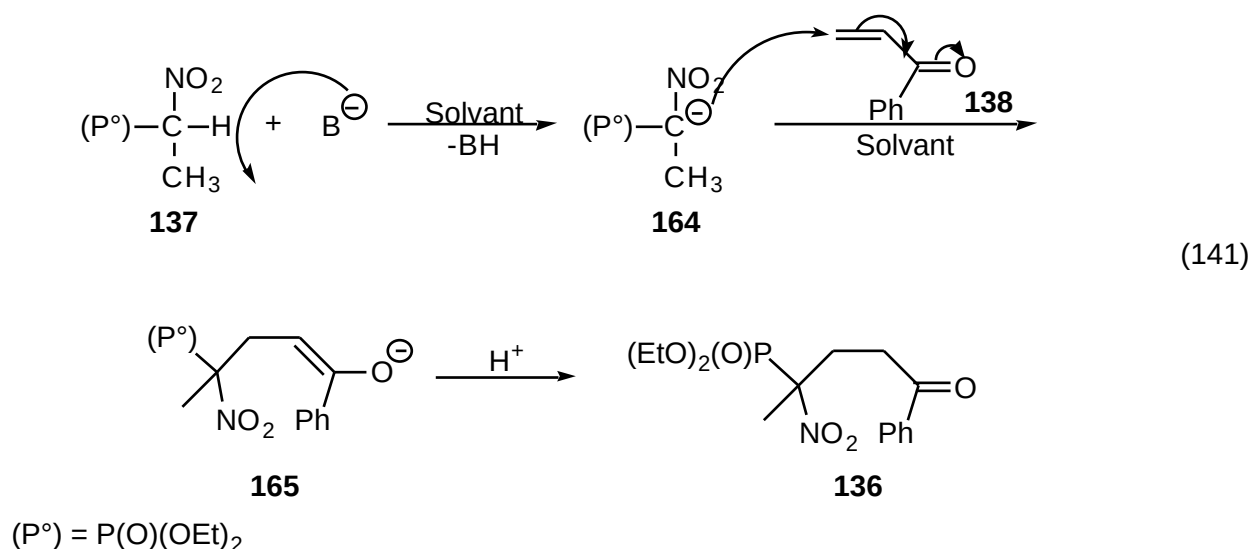


Schéma 2-121 : Addition de Michael

Le choix des conditions opératoires (température, base, solvant) doit être fait de façon à limiter la polymérisation de la phénylvinylcétone.

Nous avons effectué la réaction en présence de triéthylamine en quantité catalytique⁶⁶ comme base, dans l'acétonitrile comme solvant. Un mélange de phénylvinylcétone **138**, de 1-nitroéthylphosphonate de diéthyle **137** et de triéthylamine est laissé sous agitation à température ambiante pendant trois jours. Après traitement à l'acide chlorhydrique, on obtient un solide jaune pur avec un rendement de 71 %.

d. Cyclisation de **136**³

La cyclisation est réalisée par le couple Zn / AcOH dans l'éthanol à +4 °C pendant 48 H. Après un traitement en milieu basique (NaHCO₃), le produit brut réactionnel est chromatographié sur colonne de silice en éluant avec de l'éther diéthylique. Le rendement en nitrone est de 22 %. La nitrone **6** est pure d'après les analyses RMN ¹H, ¹³C et ³¹P.

e. Conclusion voie n°2

Cette voie, bien que comprenant plus d'étapes que la voie 1, nous a permis d'obtenir la DEPMPO-Ph en grande quantité. Ces réactions bien maîtrisées au laboratoire, sont faciles à mettre en oeuvre et donnent généralement de bons rendements.

2.5.2.3. Conclusion sur la synthèse de 6

Il fut nécessaire d'utiliser un grand nombre d'étapes pour la synthèse de **6**. L'addition d'organométallique sur des nitrones se révèle être délicate et n'est pas généralisable à toutes les nitrones. Il est connu que dans certains cas les magnésiens réagissent sur les groupements phosphonate pour conduire à des phosphinates.

2.6.SYNTHESE DU 2-ETHOXYCARBONYL-2-METHYL-3,4-DIHYDRO-2H-PYRROLE-1-OXYDE (EMPO) 7

Afin d'évaluer l'importance de l'effet électroattracteur dans l'influence du groupement phosphoré sur les performances de piégeage de la DEPMPO 2, nous avons remplacé le groupement phosphonate par un analogue carboné : le groupement éthoxycarboxyle. Selon Breur⁷³, on peut comparer l'effet électroattracteur du groupement diméthoxyphosphoryle à celui d'un groupement trifluorométhyle.

Le schéma rétrosynthétique que nous avons retenu pour la synthèse de la nitrone 7 est une modification des réactions utilisées par Bonnet¹⁶⁵ : (Schéma 2-122)

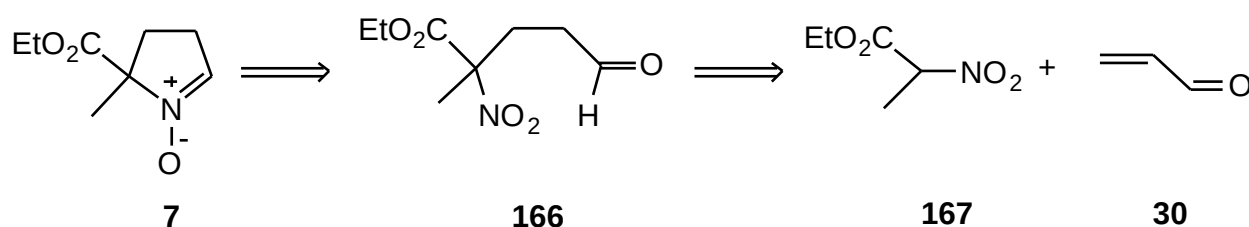


Schéma 2-122 : Schéma rétrosynthétique de l'EMPO 7

2.6.1.Etude bibliographique de la synthèse de 7

L'addition de Michael d'un carbanion nitré a déjà été décrite au paragraphe b de la page 66.

La cyclisation d'un nitroaldéhyde en nitrone a été présentée au paragraphe c page 67.

2.6.2.Résultats et discussion sur la synthèse de 7

2.6.2.1.Synthèse du 4-formyl-2-méthyl-2-nitrobutanoate d'éthyle 166⁶⁶

On utilise comme base la triéthylamine dans l'acétonitrile. La réaction dure une heure à température ambiante. La pureté est suffisante (95 %) pour la cyclisation et le rendement en produit brut est proche de 100 %.

2.6.2.2. Synthèse de l'EMPO 7

L'étape de réduction / cyclisation est effectuée dans des conditions douces (NH_4Cl / Zn)² afin d'éviter l'hydrolyse de l'ester. Dans ce cas la réaction se fait à température ambiante. Le rendement est de 52 %. Nous l'obtenons avec une pureté RMN (^1H , ^{13}C) excellente qui nous a permis de réaliser nos expériences de spin-trapping.

2.6.3. Conclusion sur la synthèse de 7

L'utilisation de réactions classiques bien maîtrisées nous a permis d'obtenir rapidement la molécule cible, ceci avec un bon rendement.

2.7. CONCLUSION SUR LA SYNTHÈSE

La synthèse de nitrone nous a permis de voir un grand nombre de réactions de la chimie organique. Bien qu'il n'existe que peu de méthodes d'obtention des nitrones, la synthèse des précurseurs peut se révéler parfois difficile. Il est à noter que nous avons échoué sur des réactions très simples, comme la bromation, la réduction, l'addition d'organomagnésien, etc ...

Au cours de cette thèse, nous avons pu mettre au point une réaction originale permettant l'introduction en une étape de deux groupements dialkoxyphosphoryle portés par un même carbone. Une étude plus poussée nous a montré que cette réaction est relativement généralisable à toutes sortes d'amides.

Nous avons pu constater que dans certains cas la RPE pouvait être aussi un moyen analytique au même titre que la RMN. Dans quelques cas, nous avons pu en effet savoir que notre produit se trouvait dans le brut réactionnel (cas par exemple de **70** obtenu par la transposition de Beckmann), alors que les autres méthodes spectrales ne nous ont été d'aucun secours. Il faut toutefois relativiser cette remarque par le fait que la RPE est beaucoup plus sensible, et parfois des traces de radicaux peuvent faire croire à une grande quantité de produit dans le milieu.

On peut dire aussi que la voie de synthèse des nitrones par réduction / cyclisation d'un groupement nitro est plus propre et donne de meilleurs rendements que la voie passant par l'oxydation des amines secondaires. La pyrrolidine **70** a été très difficile à oxyder. Cette opération n'a pu être effectuée que par le diméthyldioxirane : dans ce cas le nombre de sous-produits est relativement élevé et l'obtention de **4** pure a nécessité une purification poussée.

La conservation des nitrones pose aussi des problèmes. Pour contourner cette difficulté nous avons conservé nos nitrones au froid dans le benzène (cas de la DPBO) ou alors sous forme de précurseur stable comme pour la DEPMPO-Ph, lorsque la synthèse en grosse quantité n'est pas difficile à mettre en oeuvre.

2.8. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- (1) Torsell, K. B. G. *Nitrile Oxides, Nitrones, and Nitronates in Organic Synthesis. Novel Strategies in Synthesis*; VCH Publisher: New York, **1988**.
- (2) Keana, J. F.; Pou, S. *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 2417-2420.
- (3) Haire, D. L.; Hilborn, J. W.; Janzen, E. G. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 4298-4300.
- (4) Roubaud, V.; Lauricella, R.; Tuccio, B.; Bouteiller, J.-C.; Tordo, P. *Res. Chem. Intermed.* **1996**, *22*, 405-416.
- (5) Brown, R. F. C.; Clark, V. M.; Sutherland, I. O.; Sir Todd, A. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1959**, 2109-2116.
- (6) Murashi, S.-I.; Mitsui, H.; Watanabe, T.; Zenki, S.-I. *Tetrahedron Lett.* **1983**, *24*, 1049-1052.
- (7) Murray, R. W. *Chem. Rev.* **1989**, *89*, 1187-1201.
- (8) Mitsui, H.; Zenki, S.-i.; Shiota, T.; Murahashi, S.-i. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1984**, 874-875.
- (9) Murashi, S.-I.; Shiota, T. *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 2383-2386.
- (10) Murashi, S.-I.; Mitsui, H.; Shiota, T.; Tsuda, T.; Watanabe, S. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 1736-1744.
- (11) Murashi, S.-I.; Oda, T.; Sugahara, T.; Masui, Y. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 1744-1749.
- (12) Fréjaville, C.; Karoui, H.; Le Moigne, F.; Culcasi, M.; Pietri, S.; Tordo, P. *Brevet français* **1993**, N° PV 9308906, 20 juillet.
- (13) Davis, F. A.; Scheppard, A. C. *Tetrahedron* **1989**, *45*, 5703-5742.
- (14) Murray, R. W.; Singh, M. *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 4677-4680.
- (15) Spéziale, V.; Amat, M.; Lattes, A. *J. Heterocycl. Chem.* **1975**, *13*, 349-355.
- (16) Zhou, J.; Lu, G.; Huang, X.; Wu, S. *Synth. Commun.* **1991**, *21*, 435-441.
- (17) Mazzocchi, P. H.; Wilson, P.; Khachik, F.; Klinger, L.; Minamikawa, S. *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 2981-2989.
- (18) Padwa, A.; Kulkarni, Y. S.; Zhang, Z. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 4144-4153.
- (19) Hegedus, L. S.; McKearin, J. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 2444-2449.
- (20) Mitsunobu, O.; Wada, M.; Sano, T. *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 679-680.
- (21) Greene, T. W. *Protective groups in organic synthesis*; Wiley & Sons: New-York, **1981**.
- (22) Harding, K. E.; Burks, S. R. *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 3920-3922.
- (23) Natsume, M.; Muratake, H. *Tetrahedron Lett.* **1979**, *36*, 3477-3480.
- (24) Harding, K. E.; Burks, S. R. *J. Org. Chem.* **1984**, *49*, 40-44.
- (25) Haskell, B. E.; Bowlus, S. B. *J. Org. Chem.* **1976**, *41*, 159-160.
- (26) Vasella, A.; Voefray, R. *Helv. Chim. Acta* **1982**, *65*, 1956-1963.

- (27) Petillo, E. W.; Spitzmiller, R. *Tetrahedron Lett.* **1979**, 51, 4929-4930.
- (28) Jagodic, K. *Chem. Ber.* **1960**, 2308-2313.
- (29) Hegedus, L. S. In *Comprehensive Organic Synthesis*; P. Press, Ed.; **1991**; Vol. 4; pp 551-569.
- (30) Harding, K. E.; Tiner, T. H. In *Comprehensive Organic Synthesis*; P. Press, Ed.; **1991**; Vol. 4; pp 363-421.
- (31) Williams, D. R.; Osterhout, M. H.; McGill, J. M. *Tetrahedron Lett.* **1989**, 30, 1327-1330.
- (32) Takano, S.; Iwabuchi, Y.; Ogasawara, K. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1988**, 1527-1528.
- (33) Tamaru, Y.; Kawamura, S.-I.; Bando, T.; Tanaka, K.; Hojo, M.; Yoshida, Z.-I. *J. Org. Chem.* **1988**, 53, 5491-5501.
- (34) Bhattacharya, A. K.; Thyagarajan, G. *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, 81, 415-430.
- (35) Engel, R. *Synthesis of carbon-phosphorus bonds*; CRC press, Inc: **1988**.
- (36) Kayaku, N. *Chem. Abs.* **1982**, 97, 72582s.
- (37) Brandmann, H. A.; Conley, R. T. *J. Org. Chem.* **1973**, 38, 2236-2238.
- (38) Stipa, P. *Résultats non publiés*
- (39) Coutrot, P.; Snoussi, M.; Savignac, P. *Synthesis* **1978**, 133-134.
- (40) Dardoize, F.; Moreau, J.-L.; Gaudemar, M. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1972**, 10, 3841-3846.
- (41) Dardoize, F.; Moreau, J.-L.; Gaudemar, M. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1973**, 5, 1668-1672.
- (42) Dardoize, F.; Gaudemar, M. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1974**, 5-6, 939-942.
- (43) Hensley, L. C.; Hazlet, S. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1943**, 65, 2256.
- (44) Gilman, H.; Speeter, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1943**, 65, 2255-2256.
- (45) Floutz, V. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1943**, 65, 2255.
- (46) Curé, J.; Gaudemar, M. *C. R. Acad. Sc. Paris* **1967**, Série C, 97-99.
- (47) Curé, J.; Gaudemar, M. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1973**, 7-8, 2418-2421.
- (48) Curé, J.; Gaudemar, M. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1969**, 7, 2471-2476.
- (49) Huet, J. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1964**, 952-960.
- (50) Huet, J. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1964**, 960-967.
- (51) Huet, J. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1964**, 973-978.
- (52) Huet, J. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1964**, 967-972.
- (53) Curran, D. P. *Synthesis* **1988**, 417-439.
- (54) Tomaszewski, M. J.; Warkentin, J. *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 2123-2126.
- (55) Roubaud, V.; Mercier, A.; Olive, G.; Le Moigne, F.; Tordo, P. *J. Chem. Soc. Perkins Trans. 2* **1997**, 9, 1827-1830.

- (56) Barbati, S.; Clément, J. L.; Olive, G.; Roubaud, V.; Tuccio, B.; Tordo, P. In *Free Radicals in Biology and Environment*; F. Minisci, Ed.; Kluwer Academic Publishers: Dordrecht / Boston / London, **1997**; Vol. 27 - 3. High Technology; pp 39-47.
- (57) Varlet, J. M.; Collignon, N.; Savignac, P. *Tetrahedron Lett.* **1981**, 37, 3713-3721.
- (58) Gilbert, K. E.; Borden, W. T. *J. Org. Chem.* **1979**, 44, 659-661.
- (59) Zòn, J. *Synthesis* **1984**, 661-663.
- (60) Shechter, H.; Ley, D. E.; Zeldin, L. *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, 74, 3664-3668.
- (61) Cookson, R. C.; Ray, P. S. *Tetrahedron Lett.* **1982**, 23, 3521-3524.
- (62) Russell, G. A.; Makosza, M.; Hershberger, J. *J. Org. Chem.* **1979**, 44, 1195-1199.
- (63) Warner, D. T.; Moe, O. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, 74, 1064-1066.
- (64) Mercier, A., Thèse de Chimie Organique, Aix Marseille I, **1988**.
- (65) Rosini, G.; Marotta, E. *Synthesis* **1986**, 237-238.
- (66) Ono, N.; Kamimura, A.; Miyake, H.; Hamamoto, I.; Kaji, A. *J. Org. Chem.* **1985**, 50, 3692-3698.
- (67) Anderson, G. T.; Alexander, M. D.; Taylor, S. D.; Smithrud, D. B.; Benkovic, S. J.; Weinreb, S. M. *J. Org. Chem.* **1996**, 61, 125-132.
- (68) Tanaka, K.-I.; Iwabuchi, H.; Sawanishi, H. *Tetrahedron: Asymmetry* **1995**, 6, 2271-2279.
- (69) Ciufolini, M. A.; Spencer, G. O. *J. Org. Chem.* **1989**, 54, 4739-4741.
- (70) Moutou, J. L.; Schmitt, M.; Wermuth, C. G.; Bourguignon, J. J. *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35, 6883-6886.
- (71) Bertrand, M. *Communication orale* **1994**,
- (72) Breuer, E.; Karaman, R.; Goldblum, A.; Gibson, D.; Leader, H.; Potter, B. V. L.; Cummins, J. H. *J. Chem. Soc. Perkins Trans. 1* **1988**, 3047-3056.
- (73) Katzhendler, J.; Ringel, I.; Karaman, R.; Zaher, H.; Breuer, E. *J. Chem. Soc. Perkins Trans. 2* **1997**, 341-349.
- (74) Iffland, D. C.; Criner, G. X.; Koral, M.; Lotspeich, F. J.; Papanastassiou, Z. B.; White Jr, S. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1953**, 75, 4044-4046.
- (75) Iffland, D. C.; Criner, G. X. *J. Am. Chem. Soc.* **1953**, 75, 4047-4048.
- (76) Hawkes, G. E.; Herwig, K.; Roberts, J. D. *J. Org. Chem.* **1974**, 39, 1017-1028.
- (77) Bousquet, E. W. *Org. Synth. Coll.* **1946**, II, 313-315.
- (78) Finiels, A.; Geneste, P. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1979**, 7-8, 366-368.
- (79) Vinnik, M. I.; Zarakhani, N. G. *Russ. Chem. Rev.* **1967**, 36, 51-64.
- (80) Cunningham, M.; Ng Lim, L. S.; Just, G. *Can. J. Chem.* **1971**, 49, 2891-2896.
- (81) Olah, G. A.; Fung, A. P. *Synthesis* **1979**, 537-538.
- (82) Novoselov, E. F.; Isaev, S. D.; Yurchenko, A. G.; Vodichka, L.; Trshiska, Y. *J. Org. Chem. USSR* **1982**, 17, 2284-2289.

- (83) Yokomatsu, T.; Yoshida, Y.; Nakabayashi, N.; Shibuya, S. *J. Org. Chem.* **1994**, 59, 7562-7564.
- (84) Zilch, H.; Esswein, A.; Bauss, F. *Brevet allemand* **1992**, DE 41 14 586 A 1,
- (85) Blum, H.; Thomas; Dietrich; Wingen *Brevet allemand* **1989**, DE 38 04 686 A1,
- (86) Sietsema, W. K.; Ebetino, F. H.; Salvagno, A. M.; Bevan, J. A. *Drugs Exptl. Clin. Res.* **1989**, XV, 389-396.
- (87) Plöger, W.; Schmidt-Dunker, M.; Gloxhuber, C. *US PATENT* **1976**, Patent Number 3,988,443,
- (88) Nelson, D.; Smitherman, H. *US PATENT* **1992**, Patent Number WO 92/00721,
- (89) Nugent, R. A.; Murphy, M.; Schlachter, S. T.; Dunn, C. J.; Smith, R. J.; Staite, N. D.; Galinet, L. A.; Shields, S. K.; Aspar, D. G.; Richard, K. A.; Rohloff, N. A. *J. Med. Chem.* **1993**, 36, 134-139.
- (90) Worms, K.-H.; Blum, h. *Liebigs Ann. Chem.* **1982**, 275-281.
- (91) Vepsäläinen; Nupponen, H.; Pohjala, E.; Ahlgren, M.; Vainiotalo *J. Chem. Soc. Perkins Trans. 2* **1992**, 835-842.
- (92) Nicholson, D. A.; Cilley, W. A.; Quimby, O. T. *J. Org. Chem.* **1970**, 35, 3149-3150.
- (93) Fitch, S. J.; Moedritzer, K. *J. Am. Chem. Soc.* **1962**, 84, 1876-1879.
- (94) Sprecher, M.; Oppenheimer, R.; Nov, E. *Synth. Commun.* **1993**, 23, 115-120.
- (95) Grimaldi, S., Nitroxyde β -phosphorylés - Application a la polymérisation, Thèse de Chimie Organique, Aix Marseille III, **1997**.
- (96) Vatsouro, K.; Michtchenko, G. *Réactions organiques classées par auteurs*; Editions Mir: Moscou, **1981**.
- (97) Bapat Bhalchandra, J.; Durie, A. *Aust. J. Chem.* **1984**, 37, 211-219.
- (98) Taddei, M.; Ricci, A. *Synthesis* **1986**, 633-635.
- (99) Babin, P.; Bennetau, B.; Dunoguès, J. *Synth. Commun.* **1992**, 22, 2849-2852.
- (100) Marcantoni, E.; Petrini, M.; Polimanti, O. *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 3561-3562.
- (101) Adam, W.; Bialas, J.; Hadjarapoglou, L. *Chem. Ber.* **1991**, 124, 2377-2383.
- (102) Barbati, S., Thèse de Chimie Organique, Aix Marseille I, **1997**.
- (103) Murray, R. W.; Singh, M. *Synth. Commun.* **1989**, 19, 3509-3522.
- (104) Cicchi, S.; Goti, A.; Brandi, A. *J. Org. Chem.* **1995**, 60, 4743-4748.
- (105) Brik, M. E. *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 5519-5522.
- (106) Reuss, R. H.; Hassner, A. *J. Org. Chem.* **1974**, 39, 1785-1787.
- (107) Bongini, A.; Cainelli, G.; Contento, M.; Manescalchi, F. *Synthesis* **1980**, February, 143-146.
- (108) Bedoukian, P. Z. *Org. Synth. Coll.* **1963**, IV, 127-129.
- (109) Bloch, R. *Synthesis* **1978**, February, 140-142.

- (110)Chamberlin, E. M.; Tristram, E.; Utne, T.; Chemerda, J. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, 79, 456-459.
- (111)Duhamel, P.; Duhamel, L.; Valnot, J.-Y. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1972**, 1465.
- (112)Roussel, C. *Communication orale* **1996**,
- (113)Moureu, C.; Chaux, R. *Org. Synth. Coll.* **1941**, I, 166-169.
- (114)Campaigne, E.; LeSuer, W. M. *Org. Synth. Coll.* **1963**, IV, 919-921.
- (115)Ruhoff, J. R. *Org. Synth. Coll.* **1946**, II, 315-316.
- (116)Parrinello, G.; Stille, J. K. *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, 109, 7122-7127.
- (117)Gilman, H.; Brannen, C. G.; Ingham, R. K. *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, 78, 1689-1692.
- (118)Laszlo (de), S. E.; Williard, P. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, 107, 199-203.
- (119)Wetherill, R. B.; Brown, H. C. *J. Org. Chem.* **1957**, 22, 1135-1136.
- (120)Schlesinger, H. I.; Brown, H. C.; Hyde, E. K. *J. Am. Chem. Soc.* **1953**, 75, 209-213.
- (121)Brown, H. C.; Schlesinger, H. I.; Sheft, I.; Ritter, D. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1953**, 75, 192-195.
- (122)Minami, T.; Motoyoshiya, J. *Synthesis* **1992**, 333-349.
- (123)Kleschick, W. A.; Heathcock, C. H. *J. Org. Chem.* **1978**, 43, 1256-1262.
- (124)Minami, T.; Suganuma, H.; Agawa, T. *Chem. Lett.* **1978**, 285-288.
- (125)McIntosh, J. M.; Sieler, R. A. *Can. J. Chem.* **1978**, 56, 226-231.
- (126)Sammelhack, M. F.; Tomesch, J. C.; Czarny, M.; Boettger, S. *J. Org. Chem.* **1978**, 43, 1259-1262.
- (127)Taylor, E. C.; Davies, H. M. L. *J. Org. Chem.* **1986**, 51, 1537-1540.
- (128)March, J. *Advanced Organic Chemistry*; Third Edition ed.; John Wiley & Sons: New-York, **1985**, pp 1093 et litteratures citées.
- (129)Maier, L. *Phosphorus and Sulfur* **1973**, 3, 19-25.
- (130)Cabioch, J. L.; Denis, J. M. *J. Organomet. Chem.* **1989**, 377, 227-233.
- (131)Rhomberg, A.; Tavs, P. *Monatsh. Chem.* **1967**, 98, 105-108.
- (132)Zakharkin, L. I.; Gravrilenko, V. V.; Maslin, D. N.; Khorlina, I. M. *Tetrahedron Lett.* **1963**, 29, 2087-2090.
- (133)Cha, J. S.; Kwon, S. S. *J. Org. Chem.* **1987**, 52, 5486-5487.
- (134)Cha, J. S.; Min, S. J.; Lee, J. C.; Lee, H. S.; Lee, S. E. *Organic Preparations and Procedures Int.* **1992**, 24, 335-337.
- (135)Cha, J. S.; Kim, J. M.; Jeoung, M. K.; Kwon, O. O.; Kim, E. J. *Organic Preparations and Procedures Int.* **1995**, 27, 95-98.
- (136)Muraki, M.; Mukaiyama, T. *Chem. Lett.* **1975**, 215-218.
- (137)Zakharkin, L. I.; Khorlina, I. M. *Tetrahedron Lett.* **1962**, 28, 619-620.
- (138)Weissman, P. M.; Brown, H. C. *J. Org. Chem.* **1966**, 31, 283-287.
- (139)Bartlett, P. A.; Johnson, W. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, 95, 7501-7502.

- (140)Groth, U.; Richter, L.; Schöllkopf, U. *Liebigs Ann. Chem.* **1992**, 903-909.
- (141)Brown, H. C.; Narasimhan, S.; Choi, Y. M. *J. Org. Chem.* **1982**, 47, 4702-4708.
- (142)Santaniello, E.; Ferraboschi, P.; Sozzani, P. *J. Org. Chem.* **1981**, 46, 4584-4585.
- (143)Kikugawa, Y. *Chem. Lett.* **1975**, 1029-1030.
- (144)Soai, K.; Oyamada, H.; Ookawa, A. *Synth. Commun.* **1982**, 12, 463-467.
- (145)Osby, J. O.; Ganem, B. *Tetrahedron Lett.* **1985**, 26, 6413-6416.
- (146)Ram, S.; Ehrenkauf, R. E. *Tetrahedron Lett.* **1984**, 25, 3415-3418.
- (147)Gryszkiewicz-Trochimowski, E.; Chmelevsky, A. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1966**, 2043-2044.
- (148)Fréjaville, C.; Karoui, H.; Tuccio, B.; Le Moigne, F.; Culcasi, M.; Pietri, S.; Lauricella, R.; Tordo, P. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1994**, 1793-1794.
- (149)Fréjaville, C.; Karoui, H.; Tuccio, B.; Le Moigne, F.; Culcasi, M.; Pietri, S.; Lauricella, R.; Tordo, P. *J. Med. Chem.* **1995**, 38, 258-265.
- (150)Tuccio, B.; Lauricella, R.; Fréjaville, C.; Bouteiller, J.-C.; Tordo, P. *J. Chem. Soc. Perkins Trans. 2* **1995**, 295-298.
- (151)Janzen, E. G.; Zhang, Y.-K.; Haire, D. L. *Magnetic Resonance in Chemistry* **1994**, 32, 711-720.
- (152)Janzen, E. G.; Zhang, Y.-K.; Haire, D. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 3738-3743.
- (153)Turner III, M. J.; Rosen, G. M. *J. Med. Chem.* **1986**, 29, 2439-2444.
- (154)Ksander, G. M.; McHurry, J. E. *Tetrahedron Lett.* **1976**, 51, 4691-4694.
- (155)Floyd, J. C. *Tetrahedron Lett.* **1974**, 33, 2877-2878.
- (156)Cablewski, T.; Faux, A. F.; Strauss, C. R. *J. Org. Chem.* **1994**, 59, 3408-3412.
- (157)Furniss, B. S.; Hannaford, A. J.; Rogers, V.; Smith, P. W. G.; Tatchell, A. R. In *Vogel's Textbook of practical organic chemistry*; 4eme edition ed. Longman: London and New-York, **1978**; pp 815-816.
- (158)Reich, H. J.; Renga, J. M.; Reich, I. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, 97, 5434-5447.
- (159)Reich, H. J.; Reich, I. L.; Renga, J. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, 95, 5813-5815.
- (160)Sharpless, K. B.; Lauer, R. F.; Teranishi, A. Y. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, 95, 6137-6139.
- (161)Skorianetz, W.; Ohloff, G. *Helv. Chim. Acta* **1975**, 58, 1272-1275.
- (162)SanMartin, R.; Martinez de Marigorta, E.; Dominguez, E. *Tetrahedron* **1994**, 50, 2255-2264.
- (163)Maxwell, C. E. *Org. Synth. Coll.* **1955**, III, 305-306.
- (164)Sawamura, M.; Hamashima, H.; Ito, Y. *Tetrahedron* **1994**, 50, 4439-4454.
- (165)Bonnett, R.; Brown, R. F. C.; Clark, V. M.; Sutherland, I. O.; Sir Todd, A. *J. Chem. Soc.* **1959**, 2094-2102.

3. ETUDES R. P. E.

Rien n'est plus utile que la recherche inutile.
(Carlo Rubbia, 26 novembre 1993)

3.1.INTRODUCTION

La RPE (ou Résonance Paramagnétique Electronique) est une méthode spectrale analogue à la RMN, mais s'appliquant aux électrons célibataires. Blondin a écrit un article expliquant toutes les bases de la RPE¹, auquel on pourra se reporter. Nous ne parlerons ici que d'une partie de son utilisation, et en particulier une des méthodes couramment employées de nos jours en biologie : le spin-trapping.

3.1.1.Le piégeage de spin (spin-trapping)

La RPE est la principale méthode d'observation directe des radicaux libres. Toutefois, certains radicaux ne sont pas détectables par RPE, soit du fait de leur trop faible durée de vie², soit à cause de leur structure particulière (cas des radicaux diatomiques)³. C'est notamment le cas des espèces radicalaires centrées sur l'oxygène tels que $O_2^{\bullet-}$ / $HOO^{\bullet}$, $HO^{\bullet}$.

On peut alors avoir recours à la méthode dite du spin-trapping (piégeage de spin) dont le principe est le suivant (Schéma 3-1)⁴.

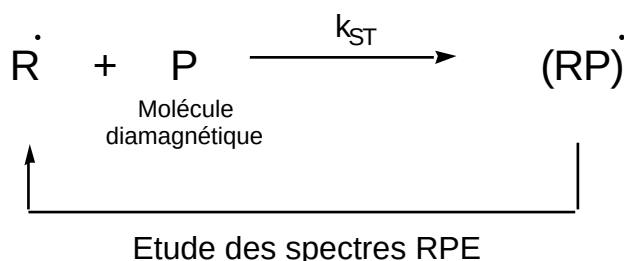


Schéma 3-1 : Principe du spin-trapping

De l'observation RPE du radical adduit, on peut obtenir des informations sur le radical piégé.

Le principe de cette méthode est simple : on utilise une molécule diamagnétique (P) qui réagit spécifiquement si possible avec les radicaux ($R^{\bullet}$). On obtient alors un adduit de spin ($PR^{\bullet}$) dont l'analyse du spectre de RPE permet d'obtenir des informations sur le radical piégé $R^{\bullet}$.

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•.
- 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•.

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

Dans les deux cas, l'adduit de spin est un nitroxyde dont les caractéristiques ont été décrites au 1.4.1 page 34.

Dans le cadre des nitroxydes nous adopterons la nomenclature de position suivante (Schéma 3-2) notamment pour désigner les couplages dans les spectres RPE.

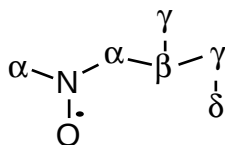


Schéma 3-2 : Nomenclature des nitroxydes

Sur un spectre RPE, on mesure aisément les valeurs des constantes de couplage des atomes en α et en β du centre radicalaire. Dans certaines conformations particulières, il est possible de résoudre de petits couplages dus aux atomes en position γ et δ .

Dans le cas d'un piège de type nitroso, le radical R• se fixe sur l'azote alors que dans une nitrone il se fixe sur le carbone en α de l'azote (Schéma 3-3). Les informations apportées dans les deux cas par le spectre RPE ne seront donc pas les mêmes, le maximum d'informations étant, en principe, apporté par les dérivés nitroso.



Schéma 3-3 : Réaction de piégeage entre un radical $R^\bullet$ et un dérivé nitroso (142), une nitrone (143)

Il faut rappeler que dans les milieux biologiques la persistance des nitroxydes peut être diminuée, du fait de la présence de réducteurs endogènes (acide ascorbique, glutathion (Schéma 3-4), systèmes enzymatiques).

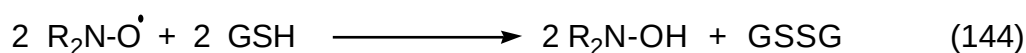


Schéma 3-4 : Réduction d'un nitroxyde par le glutathion

Nous allons donc passer en revue les deux classes de pièges (les dérivés nitroso et les nitrones) après avoir cité quelques autres pièges également utilisés.

3.1.1.1. Autres pièges⁵

Nous ne citerons ici que quelques pièges (Schéma 3-5) comme les oxydes de nitrile **168**, la base conjuguée du nitrométhane **169**, la dibutylthiocétone **170**, la 2,6-dibutyl-p-benzoquinone **171**, certains organométalliques, etc...

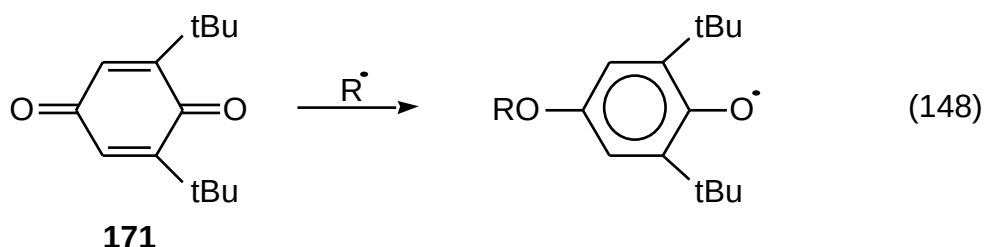
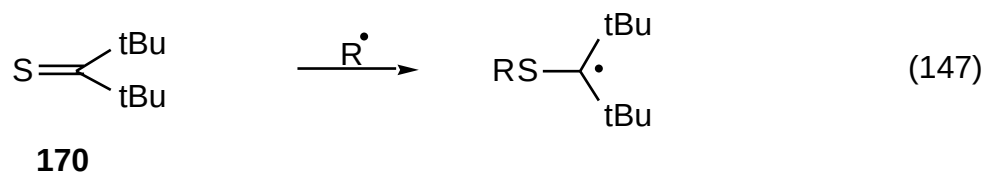
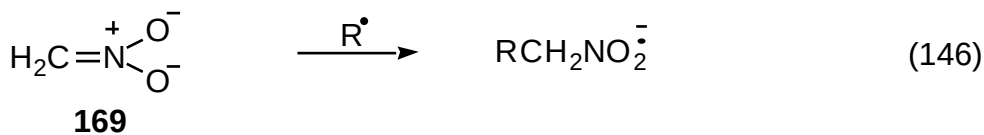
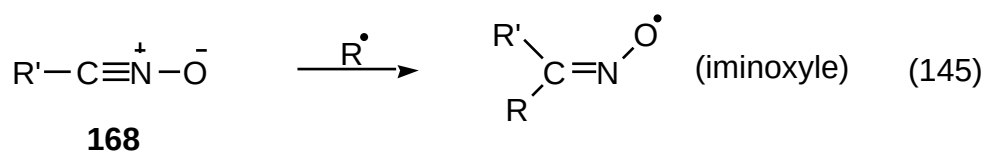


Schéma 3-5 : Pièges autres que dérivés nitroso et nitrones

3.1.1.2. Les dérivés nitroso

Un des premiers pièges de cette famille à avoir été utilisé est le 2-méthyl-2-nitrosopropane⁴, le rôle du groupement *tert*iobutyle étant de ralentir la réaction de dismutation des adduits formés (Schéma 3-6).

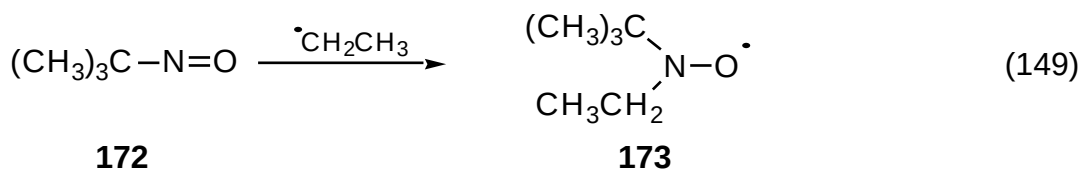


Schéma 3-6 : Exemple de piégeage (radical éthyle) avec le 2-méthyl-2-nitrosopropane

D'autres pièges ont été synthétisés comme par exemple de 2,4,6-tri-*t*-butylnitrosobenzène **174**⁶, le nitrosodurène (ou 2,3,5,6-tétraméthylnitrosobenzène) **175**⁷, le

pentafluoronitrosobenzène **176**⁷, le pentaméthoxynitroso benzène (PMNB) **177**⁸ (Schéma 3-7). Certains présentent des avantages que nous rappellerons ultérieurement.

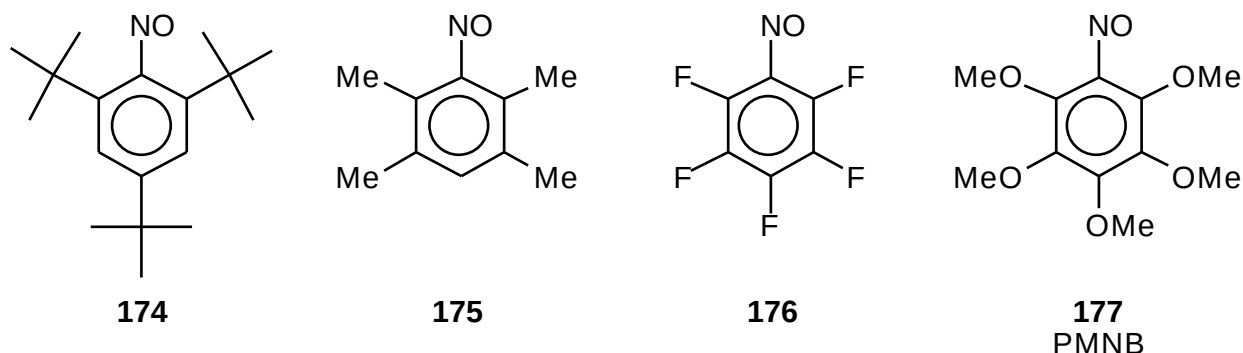


Schéma 3-7 : Quelques pièges de type nitroso

Les dérivés nitroso constituent une classe de pièges efficaces pour le piégeage des radicaux centrés sur le carbone. On obtient des adduits persistants et facilement analysables. Dans le cas de **175**, le groupe duryle présente l'inconvénient d'élargir les raies RPE à cause de la délocalisation de l'électron célibataire dans le cycle aromatique⁷. Cet élargissement des raies masque des informations provenant de faibles couplages dus à des noyaux du radical piégé. Avec la molécule **174**, on observe de petits couplages (inférieurs à 1 G) dus aux hydrogènes en position *mé*ta (couplage W)⁹. Par contre, dans le cas du PMNB **177**, le spectre RPE présente des largeurs de raies faibles, permettant la résolution de petits couplages lointains⁸. Terabe⁶ signale que dans le cas de **174**, la réaction de piégeage peut se faire soit sur l'azote soit sur l'oxygène (Schéma 3-8). La différence entre les deux adduits obtenus se fait par la mesure de g. Dans le cas des nitroxydes **174N**, la valeur de g est d'environ 2,0060 alors que pour les radicaux alkoxyanilino radical **174o** la valeur est proche de 2,0040.

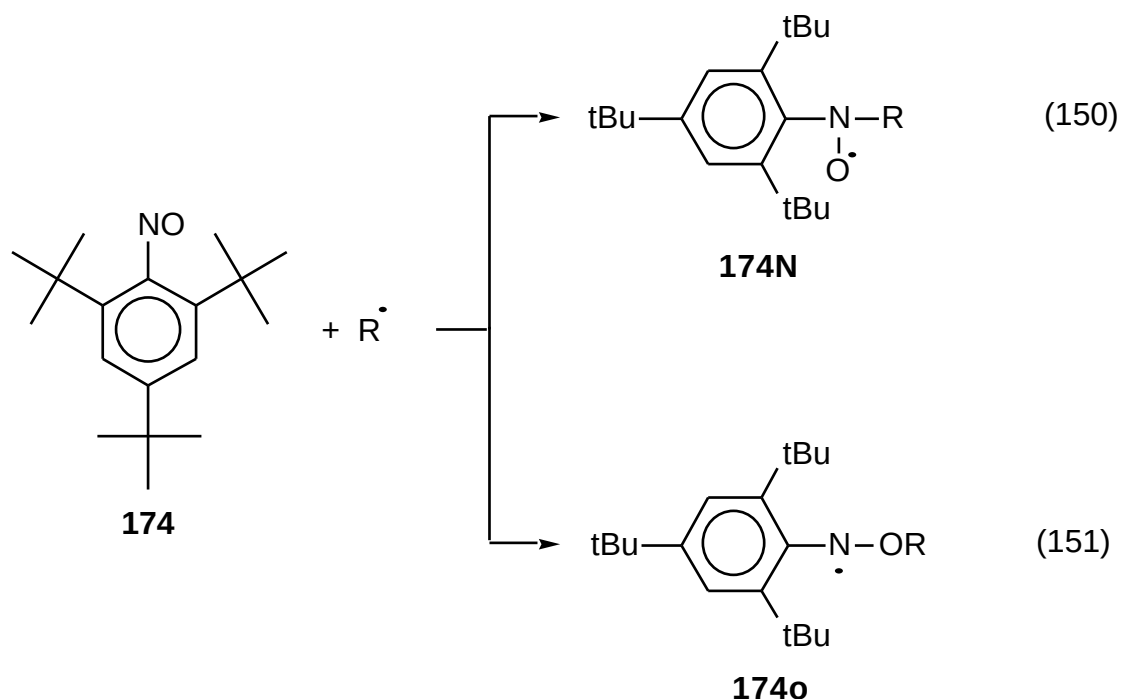


Schéma 3-8 : Deux sites de piégeage pour le 2,4,6-tri-*t*-butylnitrosobenzène

Cependant les dérivés nitroso présentent des inconvénients dus à leurs structures ou propriétés, qui limitent leur utilisation.

a. Thermolabilité et photosensibilité

Les dérivés nitroso sont sensibles à la lumière et à la chaleur⁴ (Schéma 3-9). Les lots commerciaux présentent donc fréquemment des impuretés paramagnétiques. Il est difficile de réaliser des études photochimiques en présence de ce type de piège. Par contre, Terabe⁷ signale que le pentafluoronitroso benzène **176** ne donne pas d'espèces paramagnétiques lors d'une irradiation UV ou visible. C'est aussi le cas, selon le même auteur, du nitrosodurène **175** et de **174**.

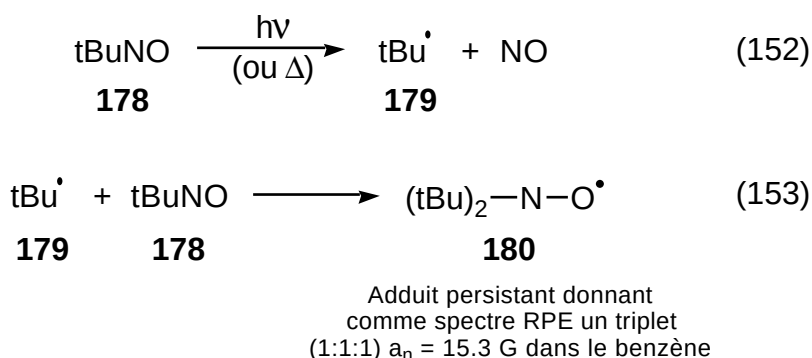


Schéma 3-9 : Réactions parasites des dérivés nitroso

b. Dimérisation

Les composés nitroso ont tendance à former des dimères qui sont inertes vis-à-vis du spin-trapping (Schéma 3-10). Il faut donc tenir compte de cet équilibre⁴. Seule la forme monomère participe au piégeage.

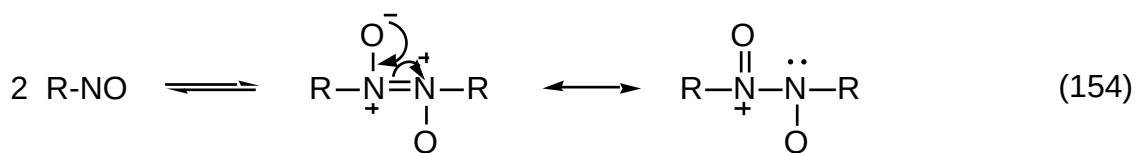


Schéma 3-10 : Equilibre monomère-dimère des dérivés nitroso

Le nitrosodurène pur est exclusivement sous forme dimère même en solution dans le benzène. C'est seulement au-dessus de la température ambiante que le dimère se dissocie⁷ (Terabe ne donne pas de valeur numérique). Par contre, Terabe⁶ cite que **174** est entièrement sous la forme active monomère aussi bien à l'état solide qu'en solution.

c. Solubilité dans l'eau

En général la solubilité des nitroso dans l'eau est faible ce qui limite leur utilisation au seul milieu organique (par exemple **177**⁸) et diminue ainsi leur intérêt pour le piégeage de spin en milieu biologique. Des groupements hydrophiles ont été introduits sur des pièges existants, par exemple une fonction alcool sur le 2-méthyl-nitrosopropane **181**⁴, une fonction sulfate sur un cycle aromatique **182**¹⁰, etc... D'autres structures peuvent être envisagées comme **183** ou **184** (Schéma 3-11).

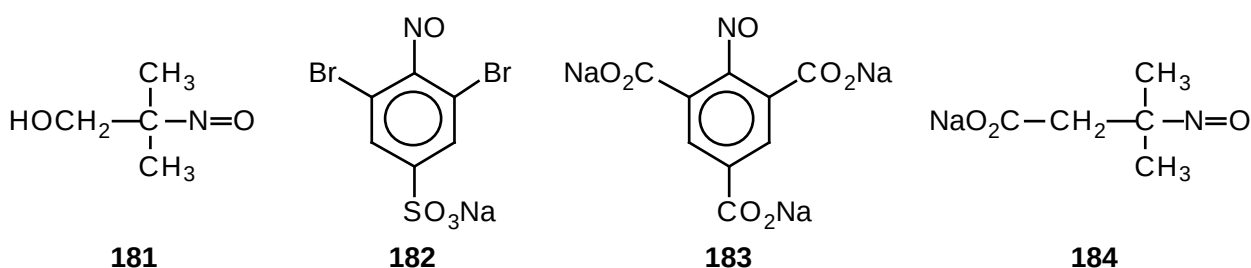


Schéma 3-11 : Dérivés nitroso solubles dans l'eau

d. Stabilité des adduits

Les adduits obtenus lors de l'addition de radicaux carbonés (alkyle ou aryle) sur les dérivés nitroso sont en général persistants et facilement détectables. Par contre, les adduits de radicaux centrés sur l'oxygène ($\text{RO}^\bullet$, $\text{ROO}^\bullet$...) sont instables à température ambiante^{2,4,11}. Par exemple l'adduit de spin du radical *tertiobutoxyle* sur le 2-méthyl-2-nitrosopropane **172** se décompose en radical *tertiobutyle* et en nitrite de *tertiobutyle*⁴ (Schéma 3-12).

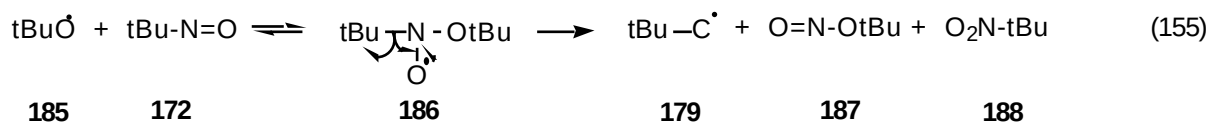


Schéma 3-12 : Décomposition de l'adduit *tertiobutoxyle* **186**

Perkins⁵ mentionne également la formation d'un dérivé nitré **188**. Wargon¹¹ arrive à piéger le radical méthoxyle (obtenu par irradiation de méthanol) à basse température (-78 °C) et indique que l'adduit n'est plus observable à 25 °C.

3.1.1.3. Les nitrones

Les nitrones sont des pièges à radicaux dont la formule générale est représentée sur le Schéma 3-13. On les utilise aussi bien *in vitro* (en milieu aqueux ou dans des solvants organiques) qu'*in vivo* (pour des études sur le cœur¹², les reins¹³, etc...). C'est Janzen^{14,15} qui a introduit l'utilisation des nitrones dans le spin-trapping. Il existe deux classes de nitrones : les acycliques qui dérivent de la phényl*tertiobutyl*nitron (PBN) **189**¹⁴ et les cycliques dont le premier membre est la DMPO **1**, développée par le groupe de Janzen à partir de 1973 (voir réf. 13 de Anderson Evans⁴) (Schéma 3-14).

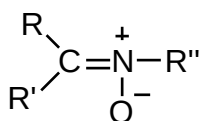


Schéma 3-13 : Formule générale des nitrones

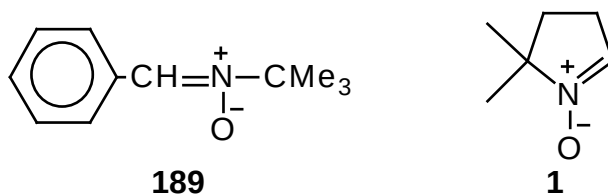


Schéma 3-14 : PBN et DMPO

Ces deux classes de nitrones présentent chacune des avantages et des limitations mais tout d'abord nous les comparerons aux dérivés nitroso.

Dans le cas des nitrones, l'addition du radical piégé $R^\bullet$ ne s'effectue pas sur l'atome d'azote, mais sur le carbone de la fonction nitroxe (Schéma 3-15). Il en résulte que les informations obtenues sur le radical piégé à partir de l'adduit $PR^\bullet$ sont moins précises. Mais grâce aux valeurs de a_N et de $a_{H\beta}$, voire aussi de $a_{H\gamma}$, l'identification du radical peut en général être faite.

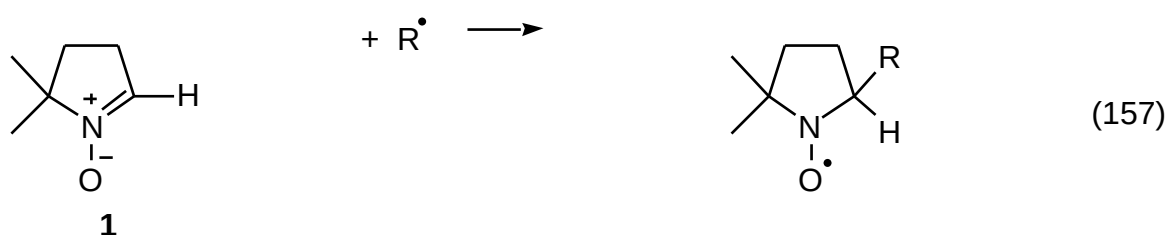


Schéma 3-15 : Piégeage de $R^\bullet$ avec la PBN (156) et la DMPO (157)

a. Comparaison avec les dérivés nitroso

◆ *Thermosensibilité et photosensibilité*

Les nitrones linéaires ou acycliques (de la famille de la PBN) sont peu sensibles à la lumière⁴. Par contre, les nitrones cycliques bien que moins sensibles que les nitroso doivent être stockées à l'abri de la lumière. Leurs bandes d'absorption se situent dans l'UV, autorisant ainsi les études photochimiques au delà de 300 nm. Généralement les nitrones se conservent à -18 °C. A la chaleur ou à la lumière les nitrones peuvent se réarranger, pour conduire à la formation d'amide *via* une oxaziridine¹⁶.

◆ *Dimérisation*

D'après Evans⁴ les nitrones n'ont pas tendance à la dimérisation. En 1993, pour expliquer la présence de signaux RPE parasites dans les solutions de 3,4-dihydro-2*H*-pyrrole-1-oxyde, Janzen *et al.*¹⁷ proposent la formation de dérivés paramagnétiques (Schéma 3-16 et Schéma 3-17).

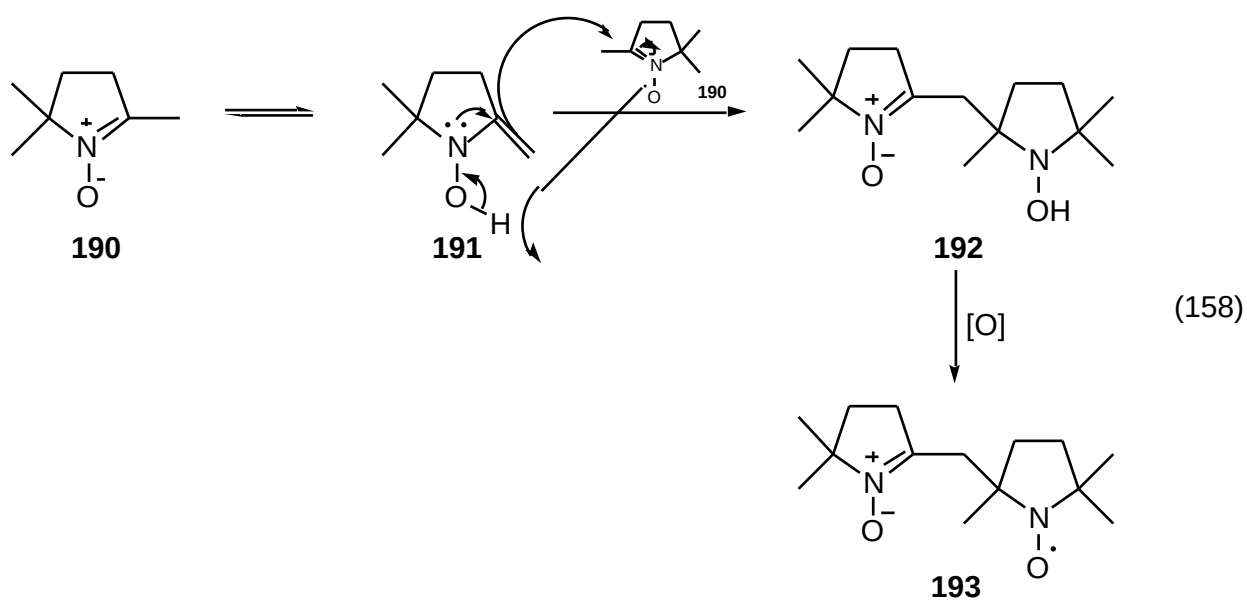


Schéma 3-16 : Dimérisation de la 2,2,5-triméthyl-3,4-dihydro-2*H*-pyrrole-1-oxyde

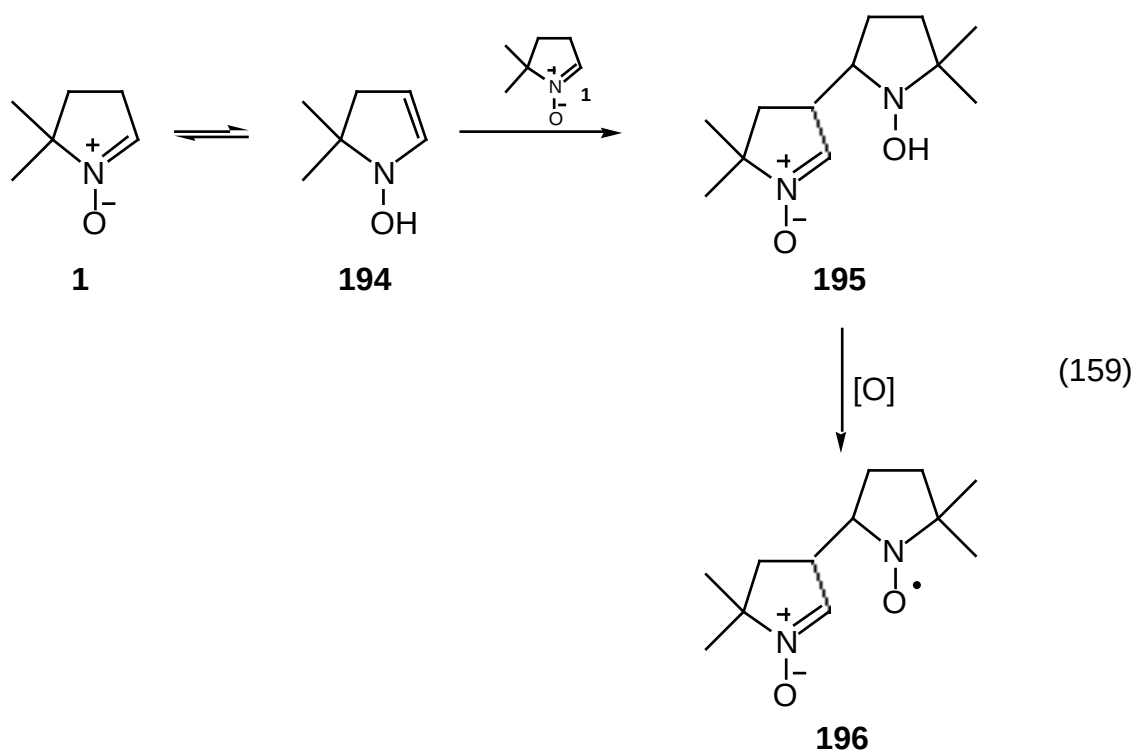


Schéma 3-17 : Dimérisation de la DMPO

◆ Solubilité dans l'eau

Les nitrones possèdent un groupement très polaire $=^+N-O^-$. La DMPO, peu lipophile, a un coefficient de partage octanol-eau (K_p) de seulement 0,02¹⁸ (0,1 selon Janzen¹⁹). On peut en augmenter le caractère lipophile en modifiant les substituants^{18,20}.

Les nitrones acycliques, telles que la PBN, sont généralement lipophiles. En effet, la PBN a un coefficient de partage K_p de 21²⁰ ou de 15¹⁹.

◆ Stabilité des adduits

En général, les nitrones piègent bien les radicaux carbonés mais les spectres de RPE permettent difficilement de distinguer deux adduits alkyle⁴.

Par contre, dans le cas des radicaux centrés sur l'oxygène la situation est différente. Nous considérerons ci-dessous séparément les nitrones linéaires et les nitrones cycliques de type DMPO.

* la PBN et ses homologues

L'adduit hydroxyle se décompose en benzaldéhyde et en *tertiobutyle* nitroxyde (Schéma 3-18)²¹. La vitesse de décomposition est fonction du pH.

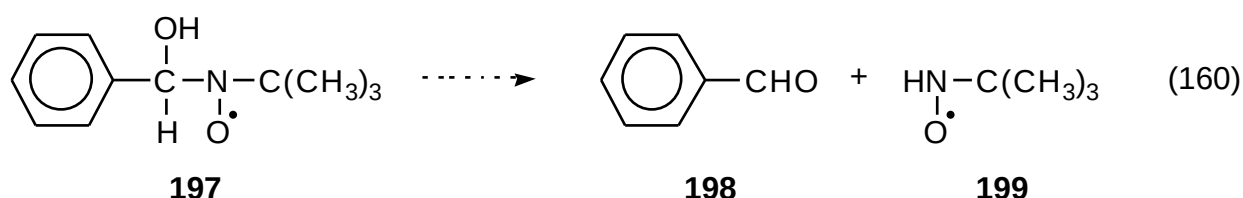


Schéma 3-18 : Décomposition de l'adduit PBN-OH

* la DMPO et ses homologues

La DMPO est actuellement un des pièges les plus utilisés et de nombreuses études lui ont été consacrées^{2,3,5,17,18,21-50}. Le signal RPE de l'adduit du radical hydroxyle DMPO-OH est un quadruplet (1:2:2:1) ($a_N = a_H = 14,9 \text{ G}^{23,51}$) (Figure 3-1). Cet adduit est persistant ($870 \text{ s} \leq t_{1/2} \leq 3480 \text{ s}$) pour des valeurs de pH comprises entre 6 et 7²³. Par contre l'adduit obtenu par réaction avec le superoxyde DMPO-OOH est peu stable : le temps de demi-vie est de l'ordre de 60 s à pH 7,0²⁹ (en fait selon Buettner *et al.*³, $91 \text{ s} \geq t_{1/2} \geq 27 \text{ s}$ quand $5 \leq \text{pH} \leq 9$). Le spectre de l'adduit DMPO-OOH comporte 12 raies ($a_N = 14,3 \text{ G}$, $a_H = 11,7 \text{ G}$, $a_{Hy} = 1,25 \text{ G}^{18}$) (Figure 3-2) (il faut

remarquer, que pour obtenir une simulation satisfaisante du spectre de l'adduit DMPO-OOH il faut envisager un échange conformationnel rapide entre deux conformères de cet adduit¹²).

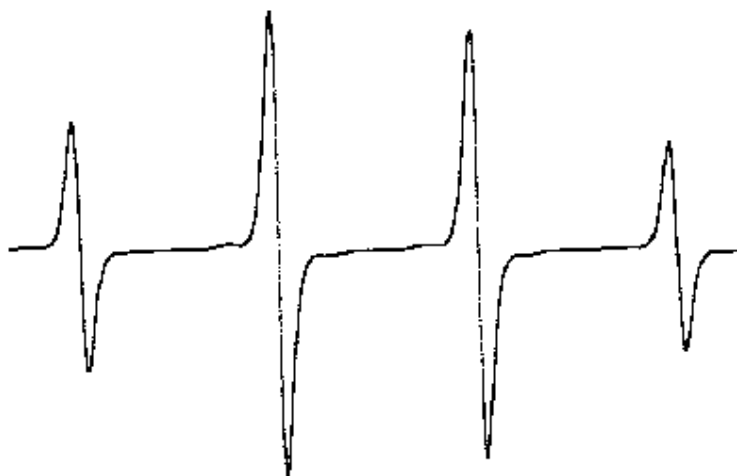


Figure 3-1 : Spectre RPE de DMPO-OH

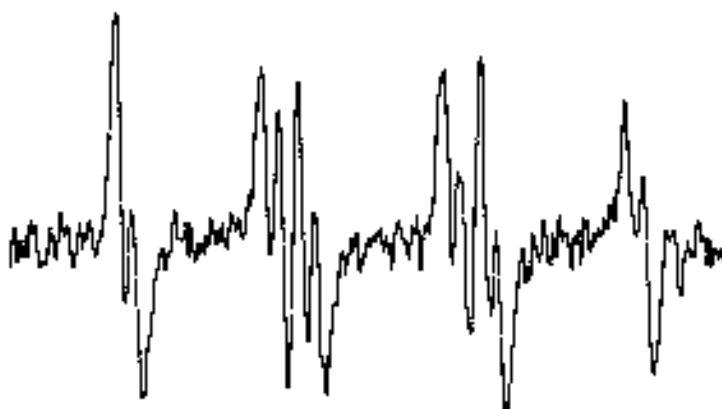


Figure 3-2 : Spectre RPE de DMPO-OOH

De nombreuses autres espèces radicalaires ($\text{tBuOO}^\bullet$, $\text{tBuO}^\bullet$, $\text{GS}^\bullet$, etc ...) sont également susceptibles d'être piégées par la DMPO²³. Pour essayer d'accroître la persistance des adduits, et en particulier celle de l'adduit du superoxyde, diverses nitrones ont été synthétisées comme le 2,2-diméthyl-5-(trifluorométhyl)-3,4-dihydro-2H-pyrrole-1-oxyde **200**²⁷, le 5-(diéthylphosphono)-2,2-diméthyl-3,4-dihydro-2H-pyrrole-1-oxyde **201**²¹ (dont le temps de demi-vie du superoxyde est très inférieur à celui de la DMPO), le 2,2,3-triméthyl-3,4-dihydro-2H-pyrrole-1-oxyde **202**²⁰, le 2-butyl-2-méthyl-3,4-dihydro-2H-pyrrole-1-oxyde **203**¹⁸, etc ... (Schéma 3-19)

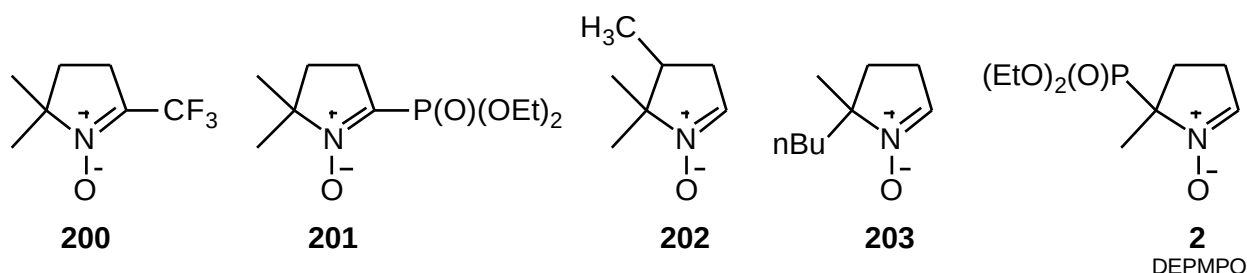


Schéma 3-19 : Autres nitrones cycliques synthétisées pour augmenter la stabilité de l'adduit superoxyde

Mais à notre connaissance à l'heure actuelle c'est le 2-diéthoxyphosphoryl-2-méthyl-3,4-dihydro-2H-pyrrole-1-oxyle **2** (DEPMPO) qui conduit à l'adduit du superoxyde le plus persistant avec un temps de demi-vie de 780 s à pH 7,⁵².

b. Limitations liées à l'emploi des nitrones

Dans ce paragraphe nous ne parlerons que de la DMPO **1** et de la DEPMPO **2**. La vitesse de piégeage du superoxyde par la DMPO est relativement faible : $k_{\text{DMPO}} = 10 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ à pH 7,⁸⁴¹. De plus l'adduit DMPO-OOH se décompose rapidement en DMPO-OH^{41,42} : les auteurs proposent le mécanisme présenté au Schéma 3-20, indiquant que le nombre d'électrons non appariés reste inchangé.

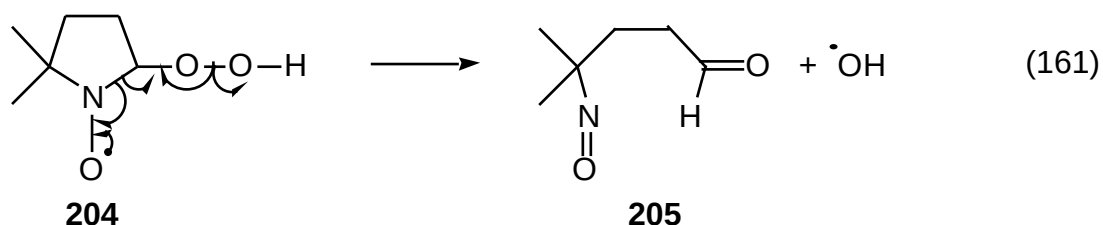


Schéma 3-20 : Décomposition de l'adduit DMPO-OOH

Un autre inconvénient lié à l'emploi de la DMPO est que cette dernière peut subir une addition nucléophile qui, suivie d'une oxydation à l'air (de l'anion ou de l'hydroxylamine) conduit à un nitroxyde (Evans⁴ cite le cas d'une addition d'un acétate sur la PBN). En particulier l'attaque de l'eau catalysée par les ions ferriques conduit à l'adduit DMPO-OH^{40,43,47}.

Dans le cas de la DEPMPO, les inconvénients cités ci-dessus sont en partie résolus. La DEPMPO est beaucoup moins sensible que la DMPO vis-à-vis de l'addition nucléophile de l'eau^{12,53}, et la décomposition de l'adduit DEPMPO-OOH ne s'accompagne pas de formation d'adduit DEPMPO-OH. Néanmoins la vitesse de piégeage du superoxyde reste faible ($k_{\text{DEPMPO}} = 1,5 k_{\text{DMPO}}^{12}$).

3.1.2. Production de divers radicaux

Dans ce paragraphe nous présenterons essentiellement les systèmes permettant la production de $\text{HO}^\bullet$ et $\text{O}_2^{\bullet-}$, et nous citerons rapidement d'autres radicaux tels que $\text{tBuO}^\bullet$, $\text{tBuOO}^\bullet$, $\text{GS}^\bullet$, etc ... Nous décrirons principalement les modes de production en milieu aqueux.

3.1.2.1. Production de $\text{HO}^\bullet$

Comme nous l'avons déjà dit, le radical hydroxyle joue un rôle majeur en milieu biologique et sa caractérisation est très importante. Nous ne rapporterons dans ce paragraphe que les modes de production les plus couramment employés.

Nous rappelons ici pour mémoire la vitesse de piégeage du radical hydroxyle sur la DMPO $k_{\text{DMPO}+\text{HO}^\bullet} = 3,4 \cdot 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ ⁴⁰.

a. Réaction de Fenton^{30,54}

La réaction de Fenton, entre les ions ferreux et le peroxyde d'hydrogène (Schéma 3-21), est une réaction connue depuis longtemps (1894).



Schéma 3-21 : Réaction de Fenton

Yamazaki *et al.* proposent le passage par un ion ferryl ($\text{Fe}^{\text{IV}}=\text{O}$) capable d'arracher un hydrogène acide³⁰. D'autres métaux peuvent également être utilisés comme le Ti^{3+} ⁵⁴ ou Cu^{+} ⁵⁵.

b. Cycle d'Haber-Weiss catalysé par le fer^{56,57}

Nous décrivons ce système au § 1.2.1.1 page 18 (Schéma 1-5 ou Schéma 3-22)

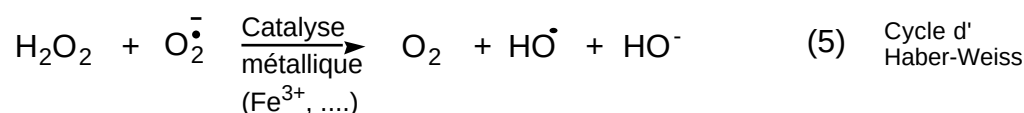
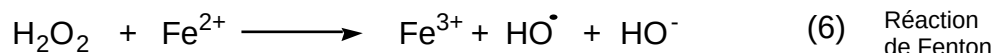


Schéma 3-22 : Cycle d'Haber-Weiss

c. Photolyse de l'eau oxygénée à 1 %^{2,36}

La photolyse de l'eau oxygénée à 1 % conduit au radical hydroxyle (Schéma 3-23).



Schéma 3-23 : Photolyse de l'eau oxygénée

A de plus hautes concentrations, la photolyse de l'eau oxygénée conduit également à la formation du radical perhydroxyle $\text{HOO}^{\cdot}$. Nous décrivons ce système à la page 153.

d. Systèmes divers

Nous citerons ici quelques autres exemples mentionnés parfois dans la littérature.

Finkelstein³⁶ indique la possibilité de produire $\text{HO}^{\cdot}$ par l'utilisation d'antibiotique en présence d'ions métalliques.

D'après Janzen² l'obtention du radical hydroxyle par le NADPH-cytochrome c (P450) est due à une réaction d'Haber-Weiss sur le radical anion superoxyde.

Sargent *et al.*⁴⁸ produisent $\text{HO}^{\cdot}$ lors de la radiolyse de l'eau : les auteurs font barboter de l'oxyde nitreux (Schéma 3-24) pour augmenter la production de radical hydroxyle.

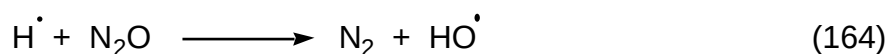
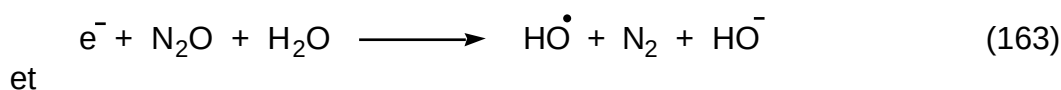


Schéma 3-24 : Augmentation de la fabrication de $HO^\bullet$
lors de la radiolyse de l'eau en présence de N_2O

Lors de la sonolyse d'un mélange H_2O / D_2O 1 : 1, Misik²⁴ observe la production de radicaux $H^\bullet$, $D^\bullet$, $HO^\bullet$, $DO^\bullet$.

Hiramoto *et al.*²⁶ observent la formation de l'adduit DMPO-OH lorsqu'ils mettent à incuber du chlorhydrate de 2,2'-azobis(2-amidinopropane) **206** (Schéma 3-25), une solution d'ADN et de la DMPO.

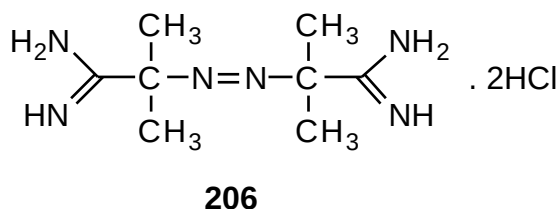


Schéma 3-25 : Chlorhydrate de 2,2'-azobis(2-amidinopropane) **206**

Zhang⁵⁸ a utilisé, outre la photolyse de l'eau oxygénée et la réaction de Fenton, une solution de sel (ammonium ou potassium) de peroxydisulfate (Schéma 3-26).

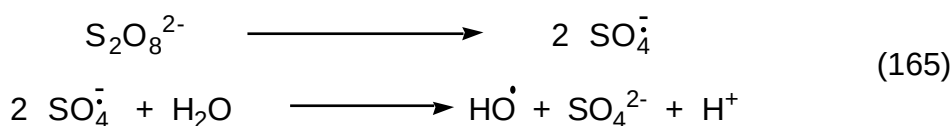


Schéma 3-26 : Production du radical hydroxyle
par des peroxydisulfates

Dans le même article, l'auteur cite la production du $HO^\bullet$ par le système $ZnO + THF, H_2O, h\nu$ sans en préciser le mécanisme.

Le radical hydroxyle peut également être produit à partir de la phénothiazine (Schéma 3-27)⁵⁹.

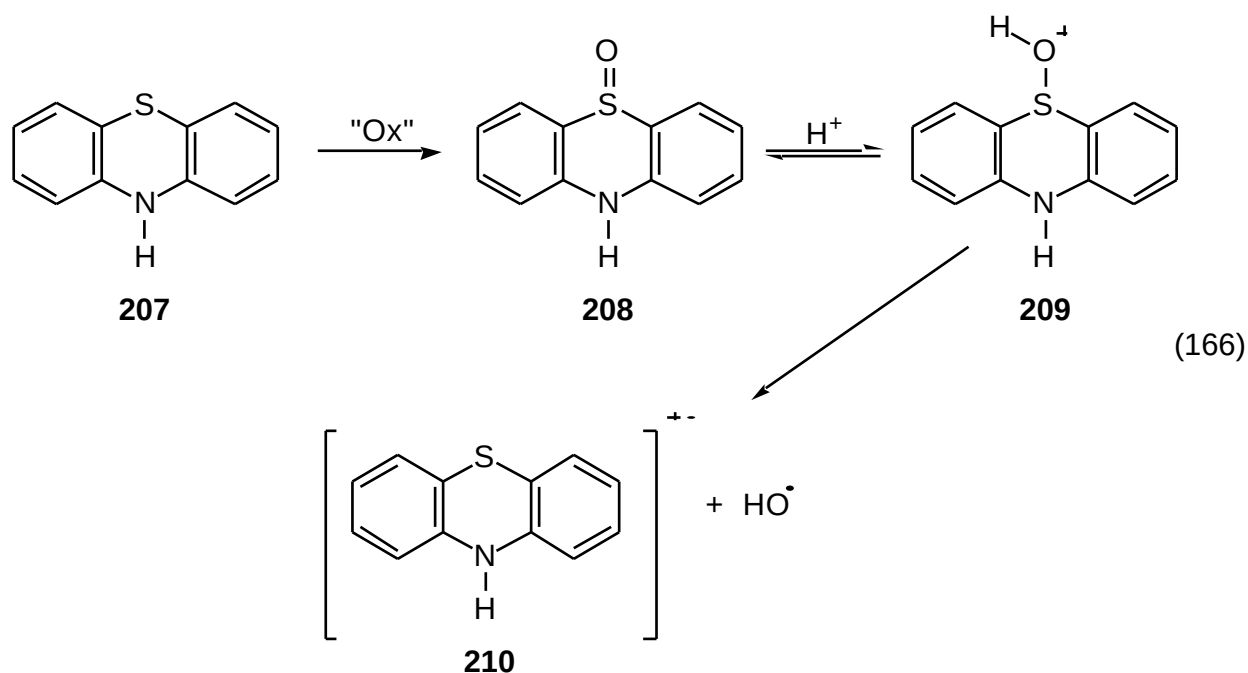


Schéma 3-27 : Production de radical hydroxyle *via* la phénothiazine

3.1.2.2. Production du superoxyde $O_2^{\bullet-}$

Dans la suite de ce manuscrit, nous utiliserons le terme superoxyde, indifféremment pour le radical anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) et le radical hydroperoxyde ($HO_2^{\bullet}$) tout en ayant à l'esprit l'équilibre présenté au Schéma 3-28.



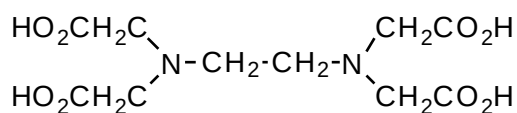
Schéma 3-28 : Equilibre acido-basique du superoxyde^{33,57,60}

a. Hypoxanthine-xanthine oxydase^{33,41}

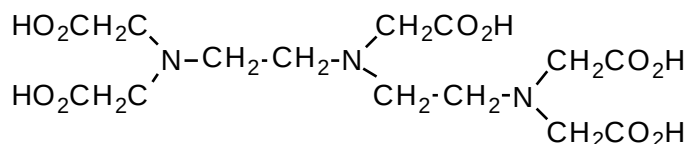
Comme il a été déjà dit, le couple hypoxanthine-xanthine oxydase produit du superoxyde comme substance paramagnétique (§ 1.2.1.2 p 20).

b. Riboflavine ou lumiflavine en présence d'un donneur d'électron^{29,41}

La riboflavine est un photosensibilisateur. Sous l'action de la lumière, elle conduit à un état triplet oxydant. Cet état triplet peut être réduit par un donneur d'électron (EDTA **211**, DTPA **212**, ... (Schéma 3-29)). La riboflavine réduite peut alors réduire l'oxygène moléculaire en radical anion superoxyde (Schéma 3-30).

**211**

EDTA : Acide
éthylènediamine
tétraacétique

**212**

DTPA (ou DETAPAC) :
Acide diéthylènetriamine
pentaacétique

Schéma 3-29 : EDTA et DTPA

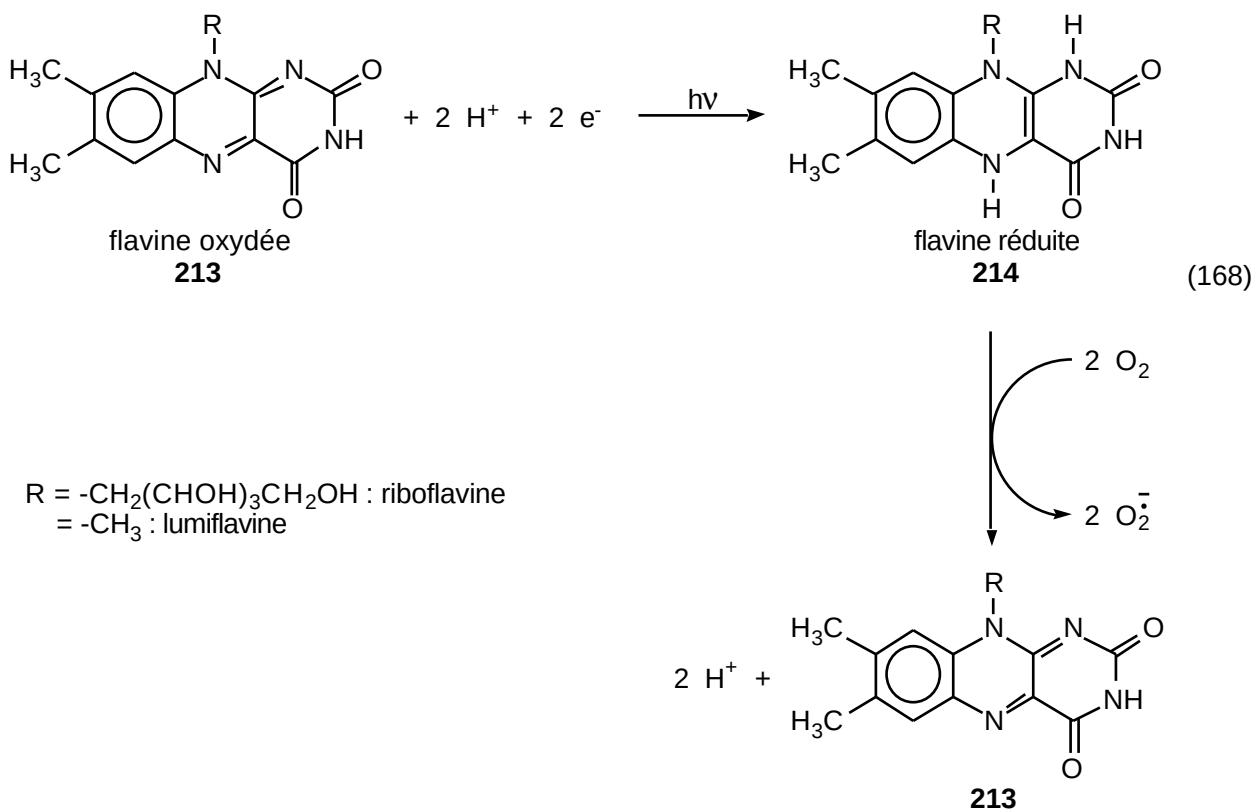


Schéma 3-30 : Réaction des flavines avec le dioxygène

Toutefois, lors d'expériences de piégeage du radical superoxyde produit par ce système, on peut également observer des adduits du radical hydroxyle ($\text{HO}^\bullet$) ainsi que de radicaux carbonés.

La riboflavine est généralement employée dans les milieux aqueux alors que la lumiflavine l'est dans les solvants organiques. Ce système est employé pour les études cinétiques car la production de superoxyde est contrôlée par la lumière. Selon le protocole employé pour l'éclairage de la solution, les concentrations disponibles en flavine réduite et en superoxyde peuvent varier, ce qui peut influencer sur la persistance des adduits formés^{61,62}.

c. Photolyse de l'eau oxygénée à 30 %²

L'irradiation UV de l'eau oxygénée à 30 % conduit au radical $\text{HOO}^\bullet$ selon le Schéma 3-31.

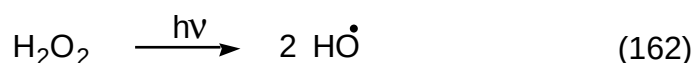


Schéma 3-31 : Photolyse de l'eau oxygénée à 30 %

Cette méthode ne peut être utilisée pour des études cinétiques car il y a également participation d'une réaction d'addition nucléophile du peroxyde d'hydrogène sur le piège.

d. Autres systèmes

Nous ne citerons que les principales méthodes.

En 1991, Reszka *et al.*⁴⁹ proposent comme source de superoxyde le dioxyde de potassium en présence d'éther couronne (18-crown-6 éther) : on l'utilise en général dans des solvants organiques.

En 1992, les mêmes auteurs⁵⁰ proposent l'utilisation de l'hydroxyde de tétrapropylammonium selon les réactions du Schéma 3-32. L'inconvénient de cette méthode est la production simultanée du radical hydroxyle.

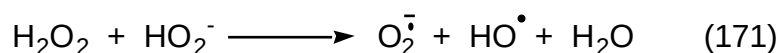


Schéma 3-32 : Production du superoxyde par l'hydroxyde de tétrapropylammonium

Dans le même article, les auteurs citent l'utilisation de pigments photoactifs (ou photosensibilisateurs) tels que la 1,8-dihydroxy-anthraquinone, l'anthraline, la benzanthrone, le rose de Bengale, la zinc-tétraphénylporphyrine, le chlorure de cétalpyridinium, etc ...

Strouf⁶³ propose l'utilisation de sel de sodium ou d'ammonium du mercaptoundécahydro-closo-dodécaborate(2-) ou du tétraborate de sodium avec la lumière UV.

3.1.2.3. Autres radicaux

a. Radical méthyle $\text{CH}_3^\bullet$

Le radical méthyle peut être produit par action du radical hydroxyle sur le DMSO (diméthylsulfoxyde) (Schéma 3-33).

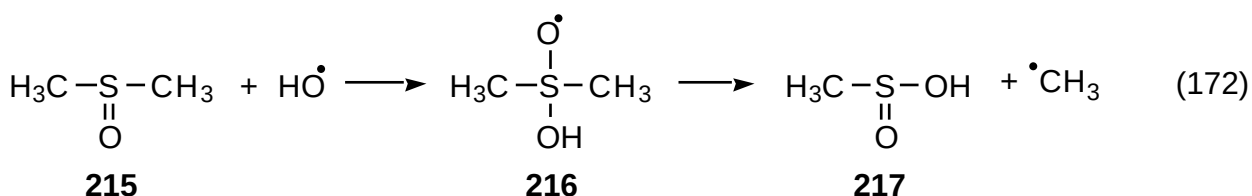


Schéma 3-33 : Production du $\text{CH}_3^\bullet$ via $\text{HO}^\bullet$

Généralement le radical hydroxyle est produit *via* une réaction de Fenton. La vitesse de réaction du radical hydroxyle sur le DMSO est très supérieure à la vitesse d'addition de $\text{HO}^\bullet$ sur le piège à radicaux.

On peut aussi citer la photolyse de l'iodure de méthyle (méthode généralisable pour l'obtention de radicaux alkyle) (Schéma 3-34). En général on n'observe pas l'adduit de l'iode.

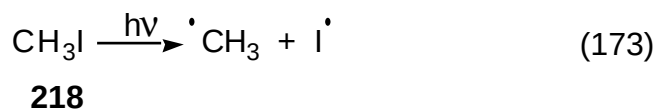
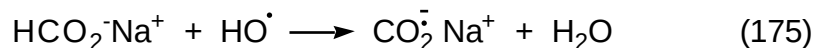


Schéma 3-34 : Production du $\text{CH}_3^\bullet$ par photolyse de CH_3I

Par sonolyse d'une solution aqueuse de *N,N*-diméthylformamide, Misik⁶⁴ obtient l'adduit méthyle mais aussi des radicaux $\bullet\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)\text{CHO}$, $\text{H}^\bullet$, $\text{HO}^\bullet$.

b. Radical $\text{CO}_2^{\bullet-}$ ³⁸

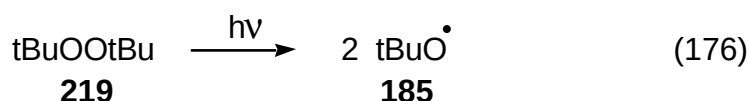
Le radical hydroxyle peut arracher un proton en α d'un carbonyle (Schéma 3-35). C'est ce qui est mis à profit dans la réaction de production du radical formiate (c'est aussi le cas de H en α d'un alcool³⁶, d'un acide⁶⁵).

Schéma 3-35 : Production du $\text{CO}_2^{\bullet-}$ c. Radical glutathionyle ($\text{GS}^\bullet$)

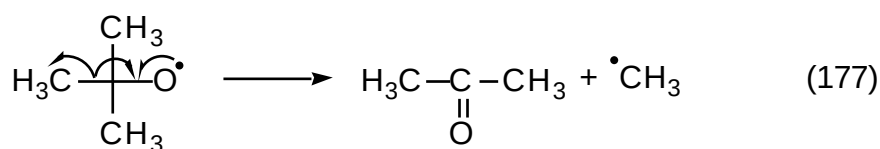
On peut obtenir $\text{GS}^\bullet$ par photolyse du glutathion oxydé GSSG **12**^{66,67}. On peut aussi l'obtenir par action du radical hydroxyle sur GSH **11**⁶⁸.

d. Radical *tert*iobutoxyle

Il peut être obtenu par photolyse du peroxyde de di*tert*iobutyle⁵⁸ (Schéma 3-36).

Schéma 3-36 : Obtention de $\text{tBuO}^\bullet$ par photolyse de tBuOOtBu

Il faut noter que le radical *tert*iobutoxyle peut se décomposer pour former de l'acétone et le radical $\text{CH}_3^\bullet$ ⁶⁹ (Schéma 3-37).

Schéma 3-37 : Dégradation du radical *tert*iobutoxyle

Le radical *tert*iobutoxyle peut être également produit par une réaction de type Fenton entre l'hydroperoxyde de *tert*iobutyle et un métal tel que le titane⁷⁰.

Janzen²¹ génère $\text{tBuO}^\bullet$ par décomposition de $\text{tBuOOC(O)C(O)OOtBu}$.

e. Radical tBuOO•

Le radical tBuOO• peut être produit indirectement par photolyse ou par décomposition catalytique d'hydroperoxyde de *tertiobutyle*^{31,39,71}.

3.1.3. Logiciels utilisés au cours de nos travaux de thèse

Nous présentons ici les logiciels utilisés :

- Pour interpréter les spectres RPE souvent complexes (détermination des constantes de couplages et vérification des hypothèses formulées).
- Pour la modélisation des cinétiques de disparition des adduits radicalaires afin d'établir une loi cinétique de disparition et de calculer les constantes de vitesse.

Dans un autre cadre, lors de l'étude conformationnelle sur les pyrrolidines gem-diphosphorées **70**, **90**, A. Rockenbauer a utilisé un logiciel de sa conception pour simuler les spectres RPE incluant les phénomènes d'échanges conformationnels. Nous n'en parlerons que brièvement.

Il est à noter qu'aucun de ces logiciels n'est commercialisé. Celui permettant la modélisation des cinétiques réactionnelles est interne (développement et utilisation) au laboratoire SREP et n'est pas diffusé à l'heure actuelle. Tous ces logiciels fonctionnent sur des compatibles PC.

3.1.3.1. Logiciel de simulation RPE

Nous avons utilisé le logiciel de D. Duling du NIEHS (National Institute of Environmental Health Sciences) pour la simulation de spectres RPE en milieu isotrope, en l'absence de phénomènes d'échanges conformationnels et celui de A. Rockenbauer qui prend en compte de tels échanges.

a. Logiciel EPR du Pr. Duling^{72,73}

Il existe deux versions de ce logiciel, l'une sous DOS l'autre sous Windows, dont le fonctionnement est identique. Nous ne parlerons pas ici de la partie servant au traitement des spectres mais de celle concernant la simulation.

Après centrage du spectre, on fournit des valeurs pour les constantes de couplage, le nombre de noyaux et leur nombre de spin : ceci constitue l'analyse préliminaire du spectre (valable aussi pour tout logiciel).

Le logiciel du NIH peut gérer jusqu'à dix espèces indépendantes, chacune pouvant avoir seize constantes de couplage. Il est à noter ici que ce logiciel ne simule que des spectres de radicaux en phase isotrope.

Afin de trouver un minimum, le logiciel utilise la méthode des moindres carrés. Pour faire varier les paramètres, le logiciel intègre deux algorithmes. Un algorithme classique qui est la méthode du Simplex. Le deuxième algorithme est le LMB1⁷³ qui est un algorithme interne. Ce dernier est basé sur l'algorithme TUNE développé par Motten et Schreiber⁷⁴, lui-même dérivé de Match décrit dans la même publication.

LMB1 optimise particulièrement les paramètres de l'hamiltonien de spin qui décrit chaque adduit dans un spectre multi-adduits. Le principe est basé sur l'itération de chaque paramètre par une perturbation (variable au cours du processus), suivie d'un calcul d'erreur (carré de la différence entre l'expérimental et le spectre calculé). Lors de chaque itération, seul un paramètre est modifié. LMB1 peut fonctionner aussi bien dans le domaine "onde continue" que "Transformée de Fourier".

b. Logiciels EPR et RING du Pr. Antal Rockenbauer⁷⁵

Le logiciel EPR permet lui aussi d'ajuster un spectre calculé à un spectre expérimental. Ce logiciel autorise l'utilisation d'un nombre plus grand de paramètres que celui de D. Duling (temps de relaxation, échange entre conformères, etc ...). A l'origine ce logiciel fut essentiellement conçu pour la détermination quantitative de paramètres spectraux au sein de l'ossature d'un modèle mathématique fixé.

Ce logiciel est basé sur la méthode des moindres carrés, mais dans des cas très complexes (structure des surfaces d'erreur très compliquée) d'autres techniques d'optimisation peuvent être utilisées : optimisation consécutive des paramètres, approche des moindres carrés non linéaire, "serpentine" statique et dynamique, introduction de paramètres composés et "élimination" de paramètres. Nous ne développerons que quelques unes des techniques possibles.

Pour modéliser un échange conformationnel, Rockenbauer utilise une équation de Bloch à deux sites⁷⁵.

Dans tous les cas le logiciel peut simuler des spectres dont les courbes sont gaussiennes, lorentziennes ou un mélange des deux.

La fonction SQD définit la méthode des moindres carrés (Equation 3-1).

$$SQD = \sum \left[E(H_i) - (aF(H_i) + mH_i + b) \right]^2$$

$E(H_i)$: spectre expérimental a : amplitude

$F(H_i)$: spectre calculé m : pente

b : ligne de base

Equation 3-1 : Définition des moindres carrés linéaires

Un des points importants à noter, est que les points de $F(H_i)$ sont calculés de façon équidistante. Ceci impose l'utilisation d'un logiciel annexe qui palliera le cas de spectromètres dont le balayage de champ est non linéaire : l'interpolation est faite par une parabole du troisième ordre. Ce logiciel annexe utilise la même procédure si l'intervalle de champ entre les spectres expérimentaux et calculés est différent. Etant donné que le logiciel peut accepter au maximum 4000 points, le logiciel annexe réduit le spectre en moyennant des paires de points.

Nous ne discutons ici que d'une méthode d'optimisation : la "serpentine". Les autres sont des méthodes classiques de techniques des moindres carrés. La méthode "serpentine" est la somme de deux techniques : optimisation par changement du premier paramètre suivie d'une optimisation consécutive de tous les paramètres p_2 à p_n un à un. L'optimisation par changement du premier paramètre peut s'effectuer lorsqu'il n'y a que deux paramètres à optimiser. La condition mathématique de l'optimum (Equation 3-2) peut être simultanément satisfaite, si à chaque fois que p_1 est changé, l'optimisation complète de p_2 est réalisée.

$$\delta SQD / \delta p_1 = 0 \quad \text{et} \quad \delta SQD / \delta p_2 = 0$$

Equation 3-2 : Condition lors d'une optimisation à deux paramètres

La méthode "serpentine" peut être utilisée dans deux modes. Le mode statique où les valeurs de p_2 à p_n sont rétablies à la valeur initiale après changement de p_1 . Dans le mode dynamique il n'y a pas de rétablissement de paramètre.

Le mode statique permet d'avoir l'optimum de p_1 de façon exacte, alors que le mode dynamique est plus rapide. L'approche "serpentine" est à utiliser pour des paramètres qui ont une faible courbure.

Une fois les constantes de couplage (a_N , a_H , a_p et éventuelle aussi a_{13C}) obtenues par le logiciel EPR, A. Rockenbauer utilise son logiciel "Ring" pour calculer les différents conformères. La méthode théorique utilisée par le logiciel a été décrite en 1993⁷⁶. Schématiquement son logiciel utilise le potentiel de pseudo-rotation, la loi de McConnell (dont l'angle dièdre a été calculé par projection de Newman à partir de l'angle de torsion). Le tout est pondéré par la loi de Boltzmann.

3.1.3.2. Logiciel de cinétique DAPHNIS⁷⁷

Le logiciel DAPHNIS permet d'ajuster une courbe expérimentale à une fonction cinétique "théorique" : il suffit pour cela de pouvoir écrire l'équation de vitesse. DAPHNIS fonctionne en deux temps.

a. Premier temps : obtention d'une courbe calculée à partir d'équations cinétiques

Il s'agit de la "partie" modélisation. Celle-ci se fait en trois parties :

- 1 -Définition de toutes les espèces réactives E_i , c'est-à-dire les réactifs, les espèces intermédiaires et les produits formés.
- 2 -Evaluation de constantes de vitesse k_i .
- 3 -Introduction des relations concentrations - temps par des équations de vitesse Y_i , du type : (Equation 3-3)

$$Y_i = d[E_i] / dt = k_1[E_1] + k_2[E_2] - k_3[E_3] + k_4[E_3][E_4] + \dots$$

Equation 3-3 : Exemple de relation entre concentrations et temps

Ceci correspond à rentrer un système de plusieurs équations de vitesse.

On calcule les concentrations au temps t à partir des concentrations initiales et des différentes constantes de vitesse k_i par approximations successives et en se rappelant que : (Equation 3-4)

$$d[E_i] = Y_i . dt$$

Equation 3-4 : Principe d'obtention de courbe calculée

Dans la pratique on remplace l'Equation 3-4 par l'Equation 3-5.

$$\Delta[E_i] = Y_i . \Delta t$$

Equation 3-5 : Résolution pratique

Mais dans ce cas il faut que l'intervalle de temps Δt soit très petit. Chaque point à l'instant t d'une courbe cinétique est calculé à partir du point précédent ($t - \Delta t$) : la détermination se fait à partir des paramètres qui sont les concentrations initiales E_i et les constantes de vitesse k_i .

b. Second temps : régression

Comme pour tout logiciel de ce type, il faut que la courbe calculée soit proche de la courbe expérimentale : pour cela on fait varier un ou plusieurs des p paramètres afin que les deux courbes (calculée et expérimentale) soient presque confondues.

La courbe cinétique que l'on souhaite analyser par simulation est constituée de n points expérimentaux z_t , qui dépendent du temps t et de la concentration $[E_i]$, E_i étant l'espèce dont on suit l'évolution (Equation 3-6).

$$z_t = f([E_i], t)$$

Equation 3-6 : Equation expérimentale

De là on choisit de faire varier un ou plusieurs paramètres. On définit la fonction Q de la façon suivante : (Equation 3-7)

$$Q = \sum_{t=1}^n (z_t - x_t)^2$$

$$x_t = [E_i] \text{ au temps } t$$

Equation 3-7 : Définition de la fonction des moindres carrés

Le but alors est de minimiser Q en faisant varier les paramètres autorisés : c'est la méthode dite des "moindres carrés". Le calcul s'arrête, selon la précision demandée, lorsqu'un minimum est atteint pour Q . En retour le logiciel donne les valeurs des p paramètres (calculés et postulés).

En fin de calcul, on obtient aussi l'écart type ET entre les courbes expérimentales et calculées défini selon l'Equation 3-8.

$$ET = [Q^2 / (n - p)]^{1/2}$$

Equation 3-8 : Ecart type

Pour calculer l'écart type sur un paramètre, le logiciel utilise la méthode de Castellano et Bother-By⁷⁸. Le logiciel calcule D , une matrice de dimension (p, n) des dérivées partielles de Q par rapport aux p paramètres (mais le résultat ne sera fourni que pour les paramètres calculés). On définit alors σ_j l'écart type du paramètre j par l'Equation 3-9.

$$\sigma_j = M_{jj}^{1/2} \cdot ET$$

$$M_{jj} = j^{\text{ième}} \text{ élément diagonal de la matrice } [D^T D]^{-1}$$

Equation 3-9 : Ecart type sur un paramètre

Par l'Equation 3-10, on estime l'erreur Er_j sur le paramètre j .

$$Er_j = \sigma_j \cdot u$$

u : coefficient de Student pour un intervalle de confiance de 95 % et un degré de liberté $n-p$

Equation 3-10 : Erreur sur un paramètre

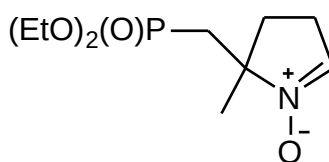
3.2. RESULTATS ET DISCUSSION

Le Tableau 3-1 indique les abréviations utilisées dans les autres tableaux. De plus nous indiquons toujours l'adduit superoxyde sous sa forme protonée quel que soit le pH (§ 3.1.2.2 page 151).

Abréviation	Signification
TP pH X	Tampon phosphate 0,1 M pH X
Ribo	Riboflavine
Lumi	Lumiflavine
Add Nu	Addition nucléophile

Tableau 3-1 : Abréviations utilisées

3.2.1. Spin-trapping avec le 2-(diéthoxyphosphorylméthyl)-2-méthyl-3,4-dihydro-2H-pyrrole (ESP) 3



3.2.1.1. Piégeage du radical hydroxyle

Nous avons produit le radical hydroxyle avec un système de Fenton (H_2O_2 / $FeSO_4$) dans un tampon phosphate à pH 5,8. L'adduit ESP-OH comporte un signal majoritaire sous forme de quadruplet d'intensité 1:2:2:1 dont les raies centrales sont élargies et d'un signal minoritaire (Figure 3-3). Les paramètres des spectres RPE sont rapportés au Tableau 3-2. Ces signaux sont

tous deux inhibés par l'ajout de catalase (600 unités.ml⁻¹) et ont été attribués aux deux diastéréoisomères de l'adduit ESP-OH.

L'adduit ESP-OH a également été observé lors de la réduction de l'adduit ESP-OOH par le système glutathion / glutathion peroxydase (10 unités.ml⁻¹).

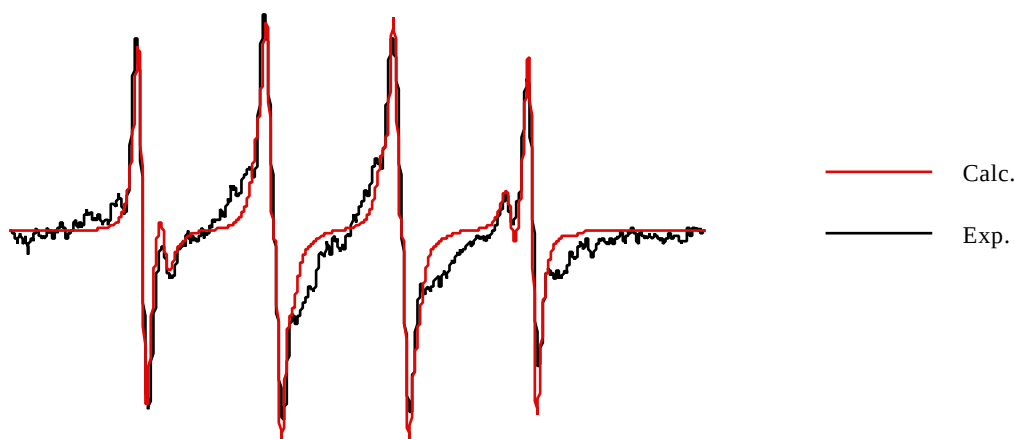


Figure 3-3 : Spectre RPE de ESP-OH (Tampon phosphate pH 5,8)

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		14,6	15,6
2) GSH / GPX				

Tableau 3-2 : Paramètres des spectres RPE de l'adduit ESP-OH (Tampon phosphate)

3.2.1.2. Piégeage du superoxyde

Nous avons produit le radical superoxyde avec les systèmes hypoxanthine / xanthine oxydase et riboflavine / lumière / DTPA, à pH 6,0 et pH 7,0. Le spectre de l'adduit ESP-OOH, aisément différenciable de l'adduit ESP-OH, se présente sous la forme d'un quadruplet (Figure 3-4) dont les raies sont très larges. Les paramètres des spectres RPE sont rapportés au Tableau 3-3. L'apparition du signal est inhibée en présence de superoxyde dismutase (85 unités.ml⁻¹) et la réduction par le système glutathion / glutathion peroxydase (10 unités.ml⁻¹) conduit à l'observation du radical ESP-OH. Comme cela se produit avec la DMPO, nous avons constaté une décomposition de l'adduit du superoxyde en adduit hydroxyle, même à pH 6,0 et dans un tampon préalablement chelexé. Le spectre de RPE ne présentant pas d'alternance de largeur de raie significative⁷⁹, contrairement à ce qui est observé dans le cas de l'adduit DEPMPO-OOH¹², il n'a

pas été nécessaire de faire intervenir un échange conformationnel dans les simulations de l'adduit ESP-OOH. Ceci s'explique par l'absence de large couplage avec l'atome de phosphore, trop éloigné du centre radicalaire.

L'adduit ESP-OOH a également été produit dans la pyridine avec le système lumiflavine / lumière / DTPA et le spectre obtenu est identique à celui produit par l'addition nucléophile de H_2O_2 dans le même solvant.

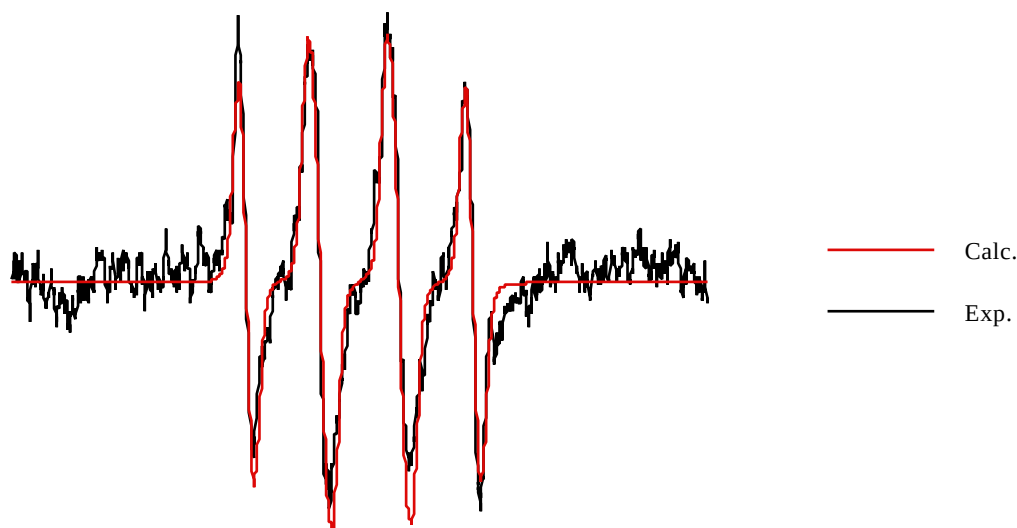


Figure 3-4 : Spectre RPE de ESP-OOH (Tampon phosphate pH 6,0)

Source	Solvant	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_2O_2	Pyridine	12,9	10,6	1,7	1,4	1,2;0,7

Tableau 3-3 : Paramètres des spectres RPE de l'adduit ESP-OOH

3.2.1.3. Piégeage du radical méthyle et du radical $\text{CO}_2^{\cdot-}$

Le radical méthyle a été produit par ajout de DMSO à un système de Fenton, en tampon phosphate pH 5,8. On obtient un spectre RPE comportant un signal majoritaire à 6 raies, accompagné d'un signal minoritaire, vraisemblablement attribuable au deuxième diastéréoisomère de l'adduit ESP- CH_3 (Figure 3-5) (Tableau 3-4).

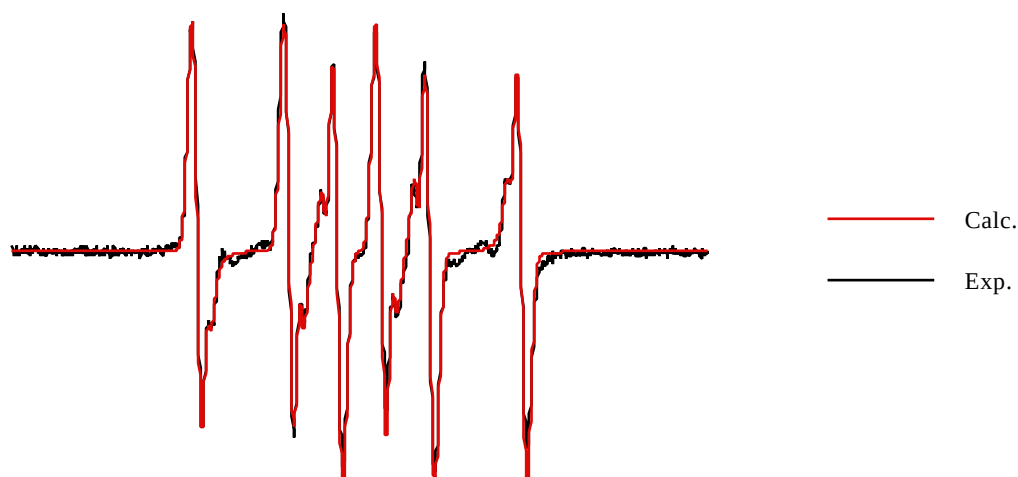


Figure 3-5 : Spectre RPE de ESP-CH₃ (Tampon phosphate pH 5,8)

Par addition de formiate de sodium à un système de Fenton en présence de la nitrone ESP **3**, on obtient un spectre RPE complexe (Figure 3-6). Pour simuler ce spectre, nous avons dû prendre en compte l'existence de deux diastéréoisomères, chacun étant affecté de couplages lointains (couplages γ avec deux atomes d'hydrogène et le phosphore) (Tableau 3-4).

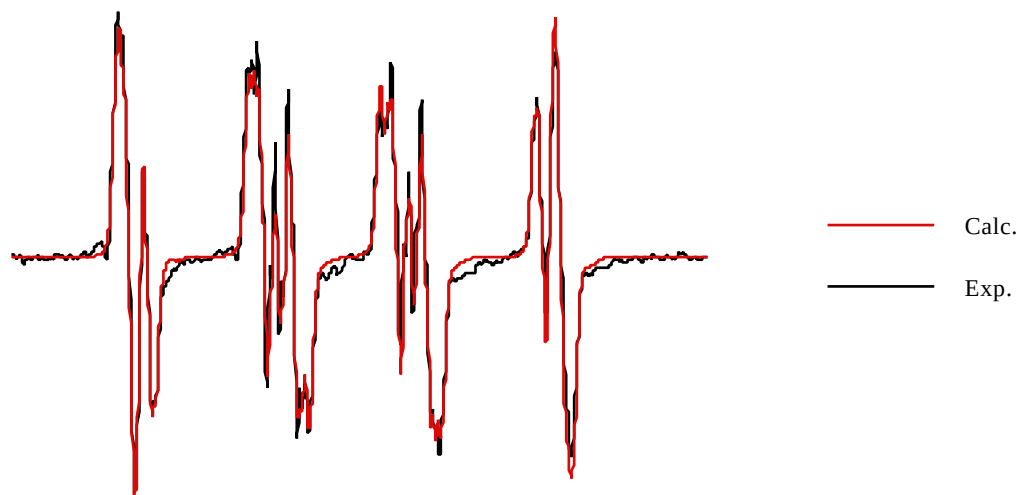


Figure 3-6 : Spectre RPE de ESP-CO₂⁻ (Tampon phosphate pH 5,8)

Radical	Source	pH	%	a_N/G	$a_{H\beta}/G$	$a_{p\gamma}/G$	$a_{H\gamma}/G$	$a_{H\delta}/G$
$CH_3^\bullet$	Fenton + DMSO	5,8	69	15,9	24,3			
			31	16,1	20,1			
$CO_2^{\bullet-}$	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

Tableau 3-4 : Paramètres des spectres RPE des adduits ESP- CH_3 et ESP- $CO_2^{\bullet-}$

3.2.1.4. Autres radicaux

Nous avons effectué le piégeage du radical glutathionyle, par photolyse de glutathion oxydé, en tampon phosphate 0,1 M, pH 7,4 en présence de la nitrone ESP. On obtient un spectre de 7 raies, correspondant à l'existence de deux diastéréoisomères (Figure 3-7) (Tableau 3-5).

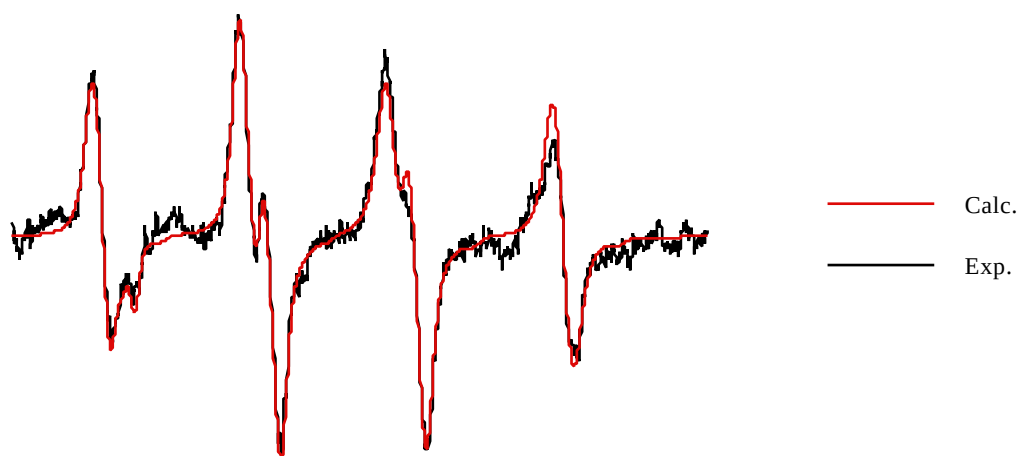


Figure 3-7 : Spectre RPE de ESP-SG (Tampon phosphate pH 7,4)

Le spectre obtenu par photolyse de l'hydroperoxyde de *tertiobutyle* à 70% dans l'eau en présence de la nitrone ESP (Figure 3-8) est complexe. Comme dans le cas de l'adduit ESP-SG, sa simulation fait appel à l'existence de deux diastéréoisomères et à la présence de couplages γ avec le phosphore et des atomes d'hydrogène (Tableau 3-5).

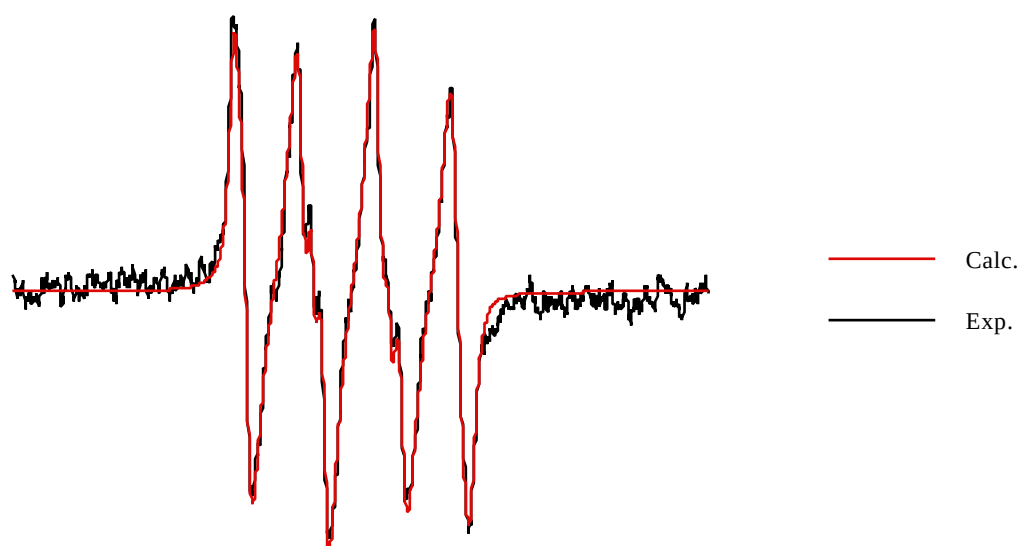


Figure 3-8 : Spectre RPE de ESP-OOtBu (Eau 30%)

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

Tableau 3-5 : Paramètres des spectres RPE des adduits ESP-SG et ESP-OOtBu

3.2.1.5. Cinétiques de décroissance de l'adduit du superoxyde ESP-OOH

Nous avons étudié la décroissance de l'adduit ESP-OOH en tampon phosphate 0,1 M pH 5,8 et pH 7,0 ainsi que dans la pyridine. Le superoxyde a été produit par un système Flavine / lumière / DTPA (riboflavine en phase aqueuse et lumiflavine dans la pyridine), en utilisant un éclairage à l'extérieur de la cavité (lampe à filament tungstène de 100W). Pour cela, nous avons travaillé à champ fixe, en suivant la décroissance de la première raie à champ faible du spectre RPE. Afin de pouvoir établir des comparaisons avec la DMPO et la DEPMPO, nous avons également effectué des mesures dans des conditions opératoires analogues pour ces deux nitrones. En tampon phosphate, la décroissance de l'adduit ESP-OOH suit une cinétique d'ordre 1. Les résultats sont rapportés dans le Tableau 3-6. A pH 7,0, la constante de vitesse de disparition de l'adduit est de $5,0 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$, ce qui correspond à un temps de demi-vie de 138 s. En ce qui concerne les cinétiques de disparition dans la pyridine, la modélisation de la décroissance doit faire intervenir un mélange de processus de premier et deuxième ordre (probablement de la dismutation^{36,46,80-82}

selon l'équation $-d[SA]/dt = k_a[SA] + k_b[SA]^2$. Cependant, après deux minutes, la décroissance obéit à une loi de premier ordre pur ($k_a = 0,85 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$), ce qui correspond à un temps de demi-vie de 815 s.

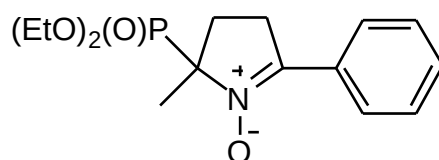
Nitrone	TP pH 5,8	TP pH 7,0	Pyridine
DMPO 1	89	50	510
DEPMPO 2	1824	780	2772
ESP 3	304	138	815

Tableau 3-6 : Temps de demi-vie (en secondes) des nitrones **1**, **2** et **3**

3.2.1.6. Conclusion sur le spin-trapping avec la nitrone ESP 3

La nitrone ESP **3** piège efficacement les radicaux centrés sur un atome d'oxygène, de carbone ou de soufre. Dans de nombreux cas, on obtient un mélange d'adduits diastéréoisomères, ce qui a déjà été rapporté pour d'autres nitrones⁸³. Cependant, le comportement général de cette nitrone se rapproche plus de celui de la DMPO que de la DEPMPO. Le temps de demi-vie de l'adduit ESP-OOH à pH 7,0 est approximativement trois fois supérieur à celui de l'adduit DMPO-OOH et sa décomposition s'accompagne de la formation d'adduit ESP-OH.

3.2.2. Spin-trapping avec le 2-diéthoxyphosphoryl-2-méthyl-5-phényl-3,4-dihydro-2*H*-pyrrole-1-oxyde (DEPMPO-Ph) 6

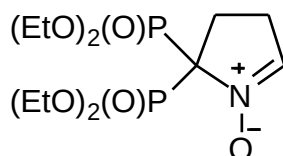


Toutes nos tentatives de piégeage avec cette nitrone se sont avérées infructueuses. Nous avons tout d'abord envisagé un problème de solubilité dans les solutions aqueuses, la DEPMPO-Ph étant difficile à solubiliser, même à des concentrations de l'ordre de 0,02 M (5 fois inférieures aux concentrations usuelles, partie expérimentale § 5.7 p 248). Cependant, les essais que nous avons effectués en milieu organique n'ont pas été plus concluants, alors que Janzen^{28,84} rapporte des piégeages réalisés avec le 2,2-diméthyl-5-phényl-3,4-dihydro-2*H*-pyrrole-1-oxyde (DMPO-Ph).

On peut supposer que la présence de deux groupements volumineux, les groupements phényle et diéthoxyphosphoryle, induit un encombrement stérique empêchant toute approche de radicaux, même de faible encombrement stérique comme le radical méthyle.

Nous n'avons donc pas pu évaluer une éventuelle stabilisation des adduits de spin due à la présence du groupement phényle, rapportée par Janzen²⁸ dans le cas du 2,2-diméthyl-5-phényl-3,4-dihydro-2*H*-pyrrole-1-oxyde (DMPO-Ph)⁸⁴.

3.2.3. Spin-trapping avec le 2,2-bisdiéthoxyphosphoryl-3,4-dihydro-2*H*-pyrrole-1-oxyde (DPBO) 4



Du fait du couplage de l'électron célibataire avec trois atomes de spin nucléaire 1/2 (2 atomes de phosphore et 1 d'hydrogène) et un atome de spin 1 (azote), les adduits de spin de la DPBO

présentent des spectres de RPE relativement complexes. Ceci en a parfois rendu l'interprétation difficile, particulièrement quand plusieurs espèces radicalaires étaient formées simultanément. Dans certains cas, notamment pour l'adduit du superoxyde, il nous a fallu prendre en compte des phénomènes d'échanges conformationnels pour obtenir des simulations correctes des spectres RPE.

Par ailleurs, cette nitrone n'est pas très stable vis-à-vis de l'irradiation UV, ceci rend difficile l'emploi de systèmes de production de radicaux utilisant ce type d'initiation (photolyse du peroxyde de ditertiobutyle, de l'iodure de méthyle...).

Avec cette nitrone, nous n'avons pas pu identifier clairement les adduits des radicaux $t\text{BuO}^\bullet$ et $t\text{BuOO}^\bullet$.

3.2.3.1. Piégeage du radical hydroxyle

Pour produire le radical hydroxyle, nous avons employé deux systèmes, la réaction de Fenton (H_2O_2 / FeSO_4) et la photolyse de l'eau oxygénée à 1 %. Les spectres des adduits obtenus dans les deux cas sont très proches. Ils se présentent sous la forme de triplet de quadruplets dont les caractéristiques spectrales sont résumées dans le Tableau 3-7. On remarque toutefois que les raies du triplet B (relatif aux phosphores) n'ont pas la hauteur attendue et on peut envisager ici la présence d'échanges conformationnels (une analyse conformationnelle sera réalisée ultérieurement). Comme on peut le voir sur la Figure 3-9, d'autres signaux indiquant la présence d'impuretés paramagnétiques apparaissent sur le spectre de l'adduit DPBO-OH. Dans le cas de la réaction de Fenton, l'ajout de DMSO ou de formiate de sodium au milieu réactionnel conduit à l'observation des adduits DPBO- CH_3 (Figure 3-13) ou DPBO- $\text{CO}_2^{\bullet-}$ (Figure 3-14) à la place de l'adduit DPBO-OH.

Nous avons également observé l'adduit DPBO-OH en produisant tout d'abord l'adduit du superoxyde (systèmes hypoxanthine / xanthine oxydase (HX / XO) ou riboflavine / lumière / DTPA) et en réduisant celui-ci avec le couple glutathion / glutathion peroxydase. Lors de la réduction de l'adduit du superoxyde produit par le système hypoxanthine / xanthine oxydase, nous avons obtenu l'adduit hydroxyle relativement pur (Figure 3-9). Ce ne fut pas le cas lorsque le superoxyde a été produit à l'aide du système riboflavine / lumière / DTPA.

Par ailleurs, dans un tampon phosphate 0,1 M pH 6,0, avec une concentration en Fe^{3+} 15 mM, la DPBO subit une addition nucléophile de l'eau, et l'oxydation spontanée à l'air de l'hydroxylamine formée conduit également à l'adduit DPBO-OH.

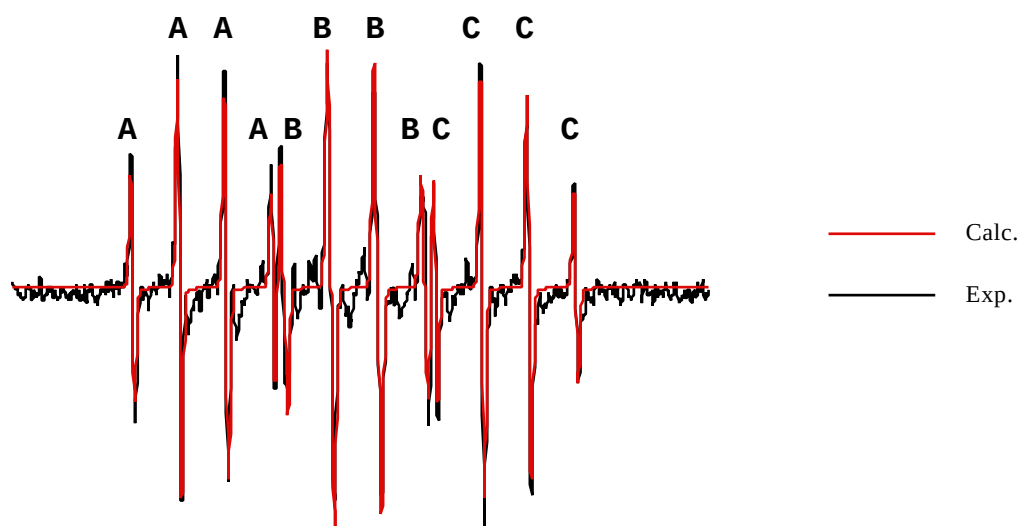


Figure 3-9 : Spectre RPE de l'adduit DPBO-OH obtenu par réduction de DPBO-OOH
(Tampon phosphate pH 5,6)

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	6,0	13,5	13,5	44,1	43,0
2) GSH / GPX					
1) Ribo/hv/DTPA	6,0	Non simulé			
2) GSH / GPX					
Add Nu H ₂ O	6,0	13,5	13,4	44,1	43,0

Tableau 3-7 : Adduit DPBO-OH, paramètres des spectres RPE obtenus par simulation⁷³

3.2.3.2. Piégeage du superoxyde

Pour observer l'adduit du superoxyde DPBO-OOH, nous avons employé les systèmes suivants: hypoxanthine / xanthine oxydase (HX / XO) ou riboflavine / lumière / DTPA en tampon phosphate 0,1 M et enfin une brève photolyse (15 s) de l'eau oxygénée à 30%. Avec le système HX / XO, à pH 6,0, on observe un mélange d'adduit DPBO-OOH et d'adduit DPBO-OH (80 / 20). L'adduit du superoxyde a été authentifié par inhibition du signal en présence de superoxyde dismutase (85 unités.ml⁻¹) ainsi que par réduction en adduit DPBO-OH par le système glutathion / glutathion peroxydase (10 unités.ml⁻¹) (§ 3.2.3.1 p 169). A pH 7,0, il ne nous a pas été possible d'observer clairement l'adduit superoxyde : l'adduit hydroxyle est majoritaire, avec parfois la présence d'une autre espèce radicalaire. Avec le système riboflavine / lumière / DTPA, à pH 7,0,

on n'observe pas le signal de l'adduit du superoxyde alors qu'à pH 5,8, on obtient un signal complexe (DPBO-OOH, DPBO-OH, adduits carbonés) dans lequel nous n'avons pu identifier de raie RPE attribuable exclusivement à l'adduit DPBO-OOH, indispensable pour la réalisation de cinétiques de disparition de cet adduit (Figure 3-11). La photolyse de l'eau oxygénée à 30% conduit, elle, à l'obtention d'un signal intense correspondant à l'adduit du superoxyde seul (Figure 3-10). Pour simuler correctement ce signal, il faut prendre en compte un échange entre deux conformères⁷⁵ (Tableau 3-8).

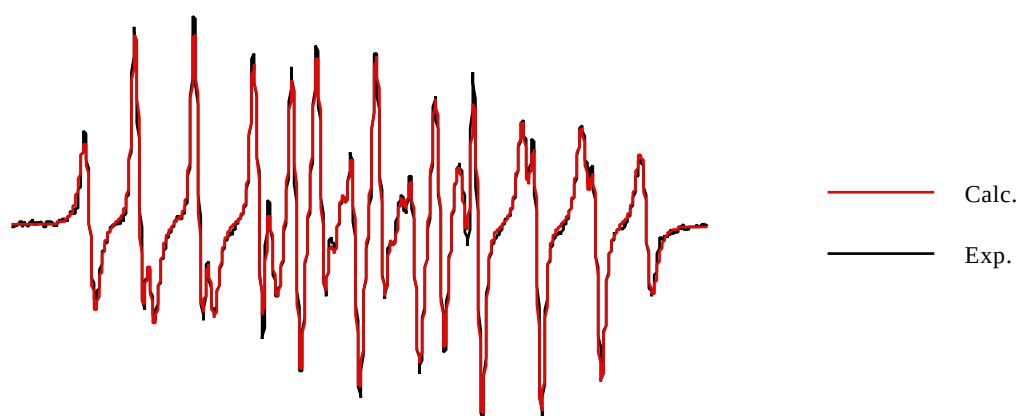


Figure 3-10 : Spectre RPE de DPBO-OOH par photolyse de H₂O₂ 30 %

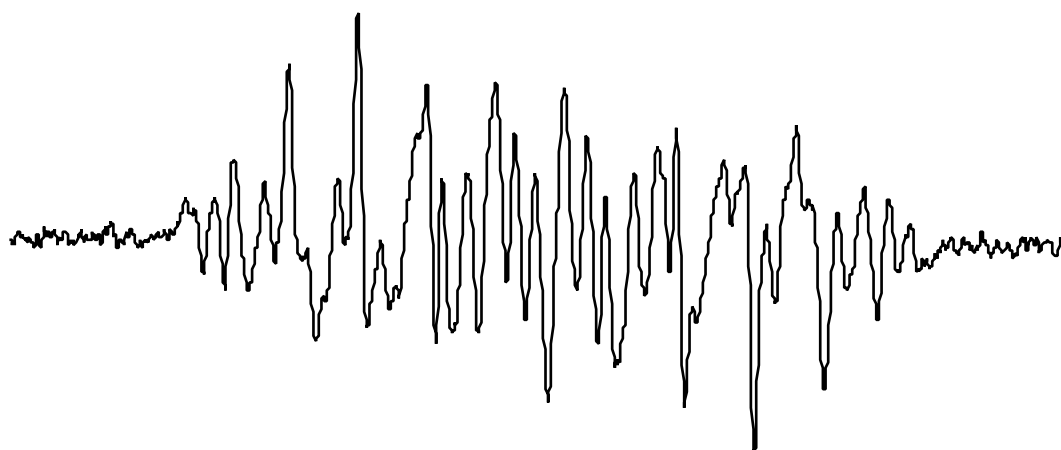


Figure 3-11 : Spectre RPE obtenu lors de la production de l'adduit DPBO-OOH par le système riboflavine / lumière / DTPA

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	τ = 0,22 10 ⁻⁷
		18	13,7	13,0	44,1	42,9	DPBO-OH
Ribo / hv / DTPA		Spectre non simulé (Figure 3-11)					
H ₂ O ₂ 30 % / hv	H ₂ O ₂ 30 %		12,8	10,0	41,7	39,4	
	(pH 4,3)		12,9	11,6	48,2	39,0	τ = 0,25 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

Tableau 3-8 : Paramètres des spectres RPE de l'adduit DPBO-OOH

Nous avons également réalisé le piégeage du superoxyde par la DPBO dans le *N,N*-diméthylformamide (Figure 3-12). Là aussi, la simulation du signal RPE met en évidence un mélange d'adduit superoxyde et d'adduit hydroxyle (19 %). En milieu aqueux, l'ajout de DMSO au système Riboflavine / lumière / DTPA n'inhibe pas la formation de l'adduit DPBO-OH qui n'est donc pas formé ici par piégeage direct du radical HO[•] mais par dégradation de l'adduit du superoxyde.

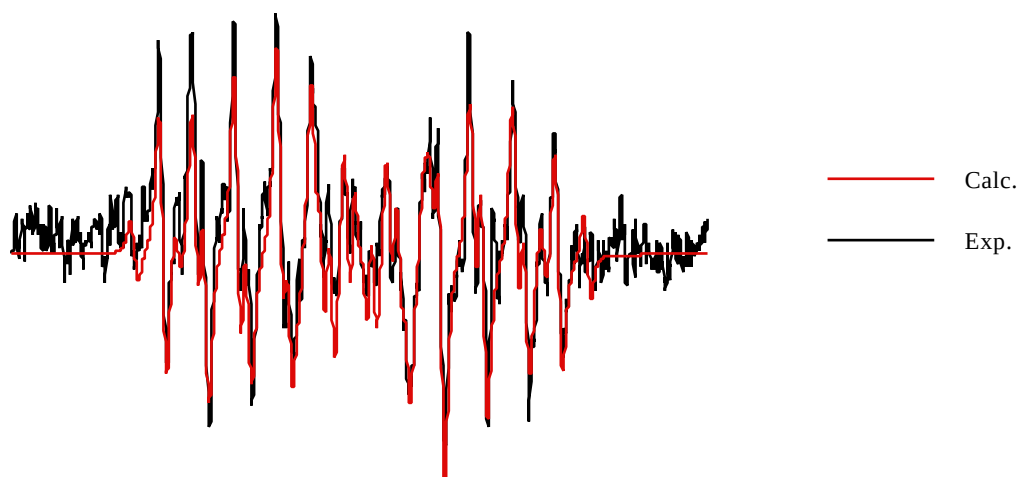


Figure 3-12 : Spectre RPE de l'adduit DPBO-OOH dans le DMF

3.2.3.3. Piégeage du radical méthyle et du radical $\text{CO}_2^{\cdot-}$

Le radical méthyle a été produit par ajout de DMSO dans un système de Fenton en tampon phosphate 0,1 M à pH 5,8. On obtient un spectre à 18 raies (triplet de doublet de triplet) (Figure 3-13) d'intensité 1. On peut simuler correctement ce spectre par deux hypothèses différentes : soit les deux phosphores sont diastéréotopiques (simulation réalisée par le programme de D. Duling), soit l'existence d'échanges conformationnels (simulation réalisée par le programme de A. Rockenbauer). Les résultats des deux hypothèses sont proches et les deux jeux de paramètres sont rapportés au Tableau 3-9.

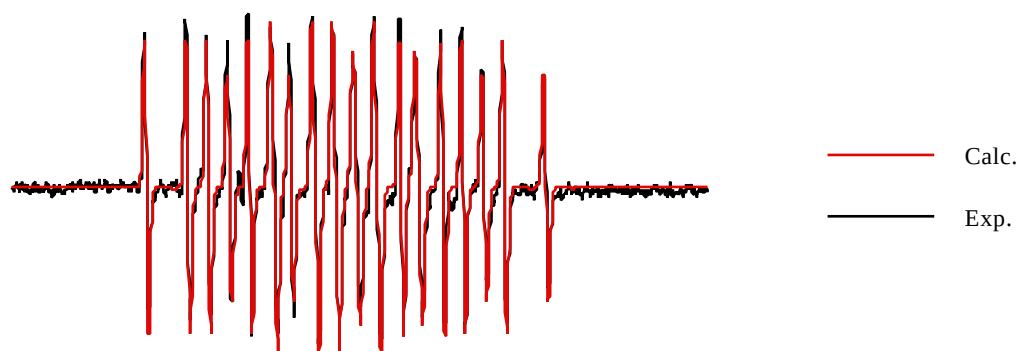


Figure 3-13 : Spectre RPE de l'adduit DPBO-CH₃ (Tampon phosphate pH 5,8)

Il a été réalisé par ajout de formiate de sodium à un système de Fenton. Le spectre de RPE comporte 18 raies et les constantes de couplage (Figure 3-14) sont voisines de celle de l'adduit méthyle (Tableau 3-9).

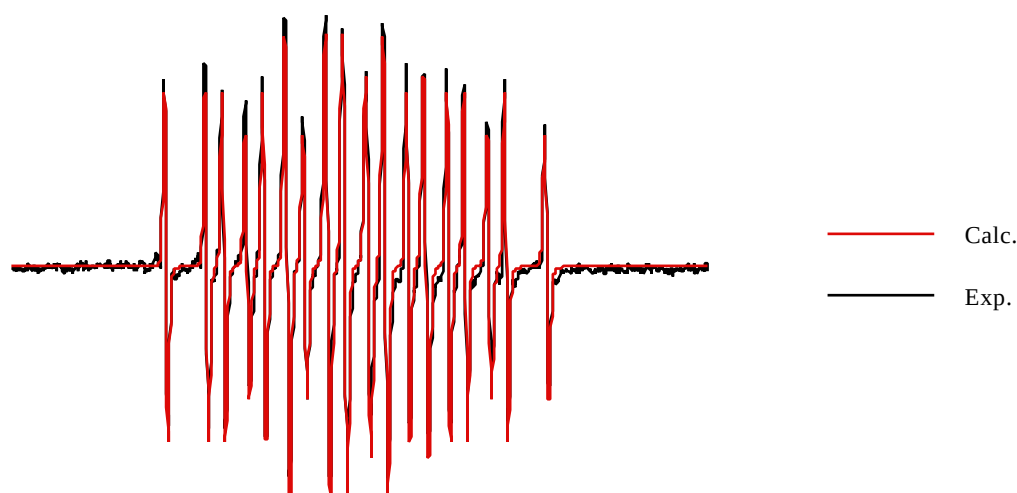


Figure 3-14 : Spectre RPE de l'adduit DPBO-CO₂⁻ (Tampon phosphate pH 5,8)

Radical	Source	pH	%	a_N /G	a_H /G	a_{p1} /G	a_{p2} /G	Hypothèse
CH ₃ [•]	Fenton+DMSO	5,8		14,6	21,8	45,5	44,2	Diastéréotopie
								e
		5,8	92	14,6	21,8	45,6	44,0	Echanges
			8	14,6	21,8	45,5	44,1	$\tau = 0,50 \cdot 10^{-6}$
CO ₂ ^{-•}	Fenton+HCO ₂ Na	5,8		14,3	20,3	43,0	42,1	

Tableau 3-9 : Paramètres des spectres RPE des adduits DPBO-CH₃ et DPBO-CO₂⁻

3.2.3.4. Piégeage du radical glutathionyle

A pH 5,8, nous avons brièvement photolysé du glutathion oxydé (GSSG) (15 s). Nous avons obtenu un spectre RPE à 20 raies (Figure 3-15). A la vue de l'allure générale de ce spectre (alternance de largeur de raies), nous avons envisager la présence d'échanges conformationnels pour la simulation de ce spectre. Les caractéristiques spectrales de l'adduit DPBO-SG sont résumées au Tableau 3-10.

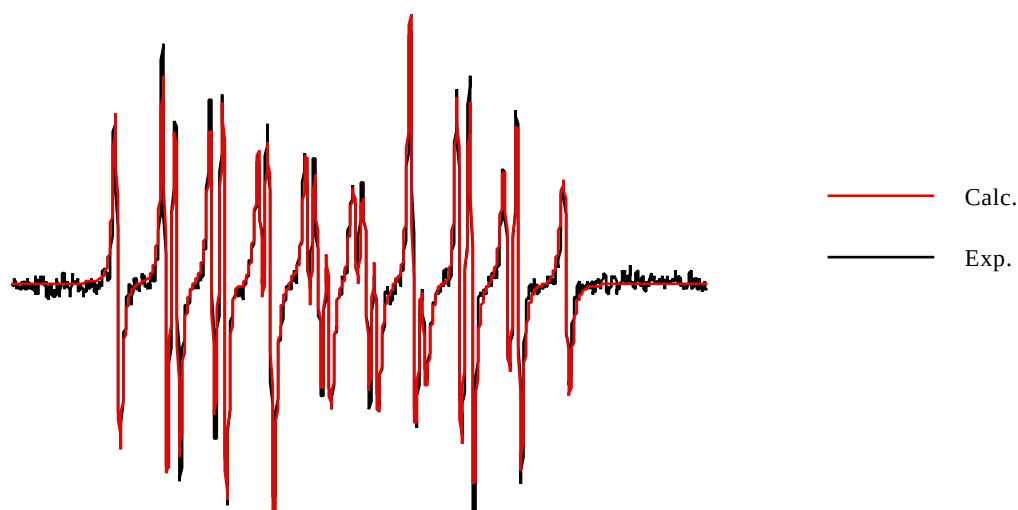


Figure 3-15 : Spectre du radical DPBO-SG (Tampon phosphate pH 5,8)

Source	pH	%	a_N / G	a_H / G	a_{p1} / G	a_{p2} / G
GSSG / hv	5,8	87	13,7	17,1	43,8	41,3
		13	13,2	17,1	49,5	33,2

$$\tau = 0,56 \cdot 10^{-7}$$

Tableau 3-10 : Paramètres de l'adduit DPBO-SG

3.2.3.5. Temps de demi-vie de l'adduit DPBO-OOH

Il ne nous a pas été possible de réaliser de cinétique de disparition de l'adduit du superoxyde en milieu aqueux, n'étant pas parvenus à identifier de raie pure de cette adduit du fait de la complexité du spectre RPE (Figure 3-11) que ce soit à pH 6,0 ou pH 7,0.

Toutefois, nous avons pu évaluer la persistance de cet adduit en milieu organique: nous avons effectué une cinétique de décroissance de l'adduit superoxyde dans la pyridine, le superoxyde étant produit par le système lumiflavine / lumière / DTPA. Nous avons pour cela irradié la solution à l'intérieur de la cavité par une lampe à incandescence de 100 watts et suivi, après arrêt de l'irradiation, la décroissance à champ fixe du signal RPE (troisième raie à champ faible). Nous avons modélisé cette décroissance par une cinétique d'ordre 1. Dans ces conditions la persistance de l'adduit DPBO-OOH est 1,1 fois supérieure à celle de DMPO-OOH mais 4,8 fois moindre que celle de DEPMPO-OOH.

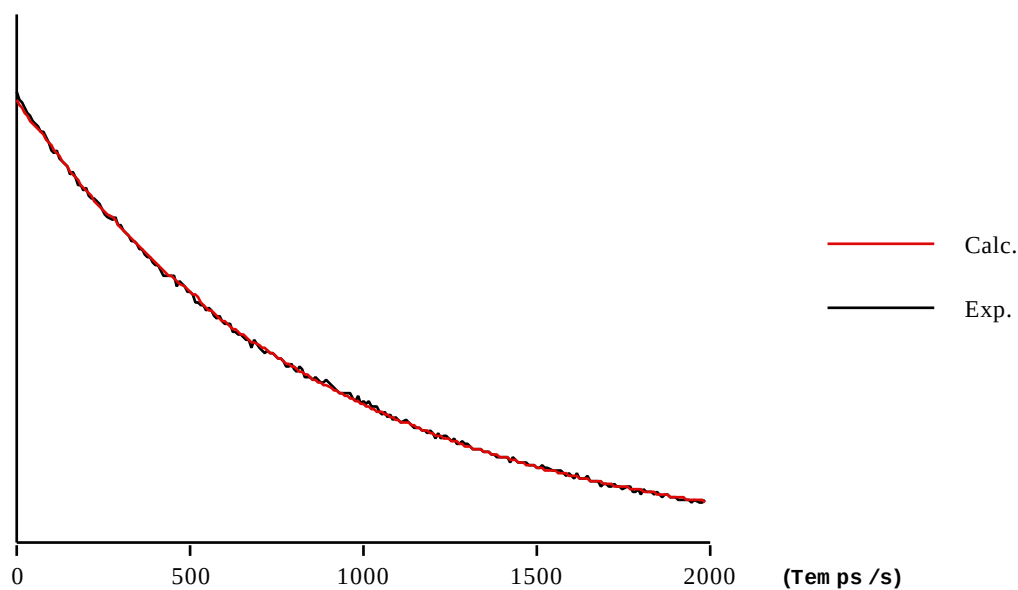


Figure 3-16: Courbe de décroissance de DPBO-OOH dans la pyridine

Nous avons par ailleurs effectué une cinétique de décroissance de l'adduit DPBO-SG à pH 7,4. Nous avons suivi pour cela la décroissance de la première raie à champ faible, après 15 secondes de photolyse. Nous obtenons, en ne prenant en compte qu'une décroissance d'ordre 1, un temps de demi-vie de 679 s.

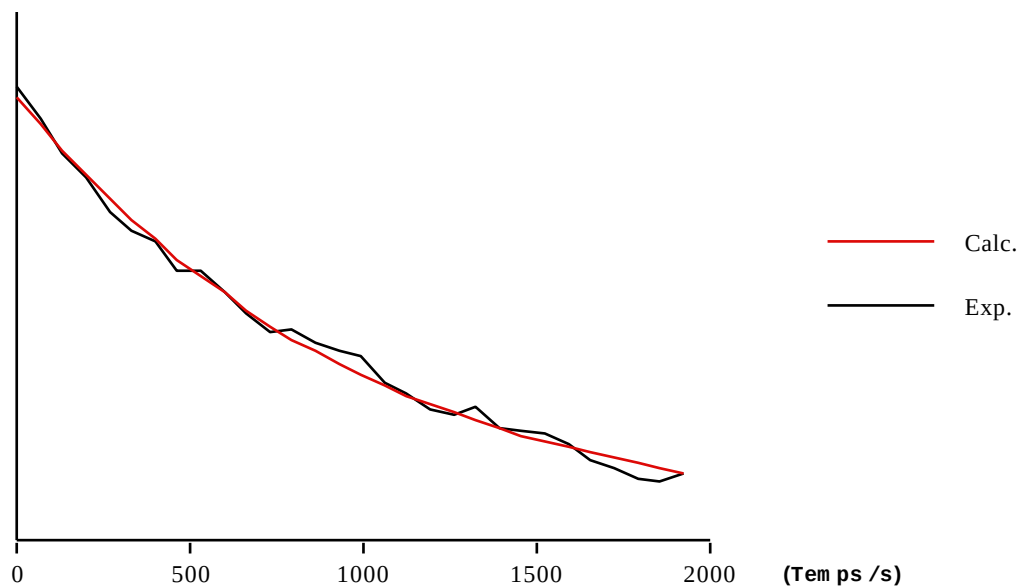
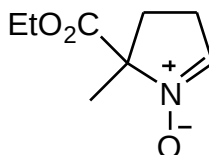


Figure 3-17 : Courbe de décroissance de l'adduit DPBO-SG (Tampon phosphate pH 7,4)

3.2.3.6. Conclusion sur le spin-trapping avec la DPBO 4

Comparativement à la DEPMPO, dans le cas de la DPBO l'introduction en position 2 d'un deuxième substituant diéthoxyphosphoryle sur le cycle 3,4-dihydro-2*H*-pyrrole n'apporte pas d'amélioration dans la persistance de l'adduit du superoxyde. Nous retrouvons au contraire les inconvénients déjà connus pour la DMPO (addition nucléophile de l'eau, transformation de l'adduit DPBO-OOH en DPBO-OH, etc...). Un inconvénient majeur lié à l'emploi de cette nitronne est la multiplicité du nombre de raies, du fait de l'introduction du deuxième phosphore qui rend difficile l'interprétation des spectres RPE, particulièrement lorsqu'un adduit n'est pas pur. Ce fut le cas lors de nos essais de cinétique de décroissance de l'adduit du superoxyde produit par le système riboflavine / lumière / DTPA. De plus l'adduit du superoxyde est peu stable (inobservé en tampon phosphate à pH 7,0), les cinétiques de décroissance effectuées dans la pyridine indiquant une faible augmentation (1,1 fois) de la persistance de l'adduit superoxyde par rapport à la DMPO. Par contre la persistance de l'adduit glutathionyle s'avère intéressante.

3.2.4. Spin-trapping avec le 2-éthoxycarbonyl-2-méthyl-3,4-dihydro-2H-pyrrole-1-oxyde (EMPO) 7



3.2.4.1. Piégeage du radical hydroxyle

Nous avons produit le radical hydroxyle soit par une réaction de Fenton, à pH 5,6 et pH 7,0, soit par photolyse d'une solution aqueuse d'eau oxygénée à 1 %. Avec le système de Fenton, on obtient deux quadruplets d'intensité 1:2:2:1, correspondant à l'existence de deux diastéréoisomères (Figure 3-18). Entre les deux valeurs de pH étudiées, on observe seulement une variation modérée du rapport des deux diastéréoisomères (voir Tableau 3-11). Par addition soit de DMSO, soit de formiate de sodium à la solution RPE, nous avons obtenu les adduits EMPO-CH₃ ou EMPO-CO₂⁻ (§ 3.2.4.3 p 181) à la place de l'adduit hydroxyle. Le spectre obtenu par photolyse de l'eau oxygénée à 1 % est semblable à celui observé par la réaction de Fenton : les légères variations des constantes de couplage de l'un des diastéréoisomères sont attribuables à la différence de pH de la solution.

Nous avons également observé l'adduit EMPO-OH obtenu par réduction de l'adduit du superoxyde (produit par le système hypoxanthine / xanthine oxydase) par le couple glutathion / glutathion peroxydase (10 unités.ml⁻¹), à pH 5,6 et pH 7,0.

Par ailleurs, toute tentative d'addition nucléophile s'est révélée infructueuse, même avec des concentrations allant jusqu'à 21 mM en ion ferrique (tampon phosphate 0,1M, pH 7,0).

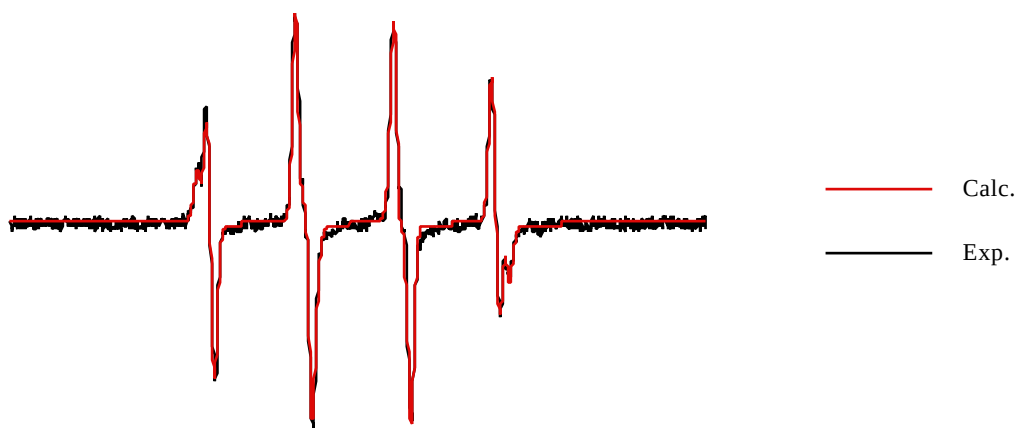


Figure 3-18 : Spectre RPE de l'adduit EMPO-OH (Tampon phosphate pH 5,6)

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_2O_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	

Tableau 3-11 : Paramètres des spectres RPE de l'adduit EMPO-OH
(Tampon phosphate 0,1M)

3.2.4.2. Piégeage du superoxyde

Nous avons produit le superoxyde avec le système hypoxanthine / xanthine oxydase (HX / XO) à pH 5,6 et pH 7,0. Les spectres obtenus (Figure 3-19) comportent 4 massifs avec des raies centrales complexes (présence de couplages γ). Contrairement à la DEPMPO **2**⁵³ et comme dans le cas de la nitronne ESP **3**, on n'observe sur le spectre RPE qu'un seul diastéréoisomère de l'adduit EMPO-OOH et ce pour les deux valeurs de pH étudiées (voir Tableau 3-12). La réduction de cet adduit par le couple glutathion / glutathion peroxydase (10 unités.ml⁻¹) conduit à l'adduit EMPO-

OH. Par ailleurs, l'apparition du signal attribué à l'adduit EMPO-OOH (Figure 3-19) est inhibée si l'on travaille en présence de superoxyde dismutase ($85 \text{ unités.ml}^{-1}$).

L'obtention de l'adduit EMPO-OOH par photolyse de l'eau oxygénée à 30 % conduit à un spectre de moins bonne qualité, notamment au niveau de la résolution des raies centrales qui sont considérablement élargies.

Il est important de noter que dans le cas de la nitrone EMPO, contrairement à la DMPO **1**, on ne constate pas de dégradation spontanée de l'adduit EMPO-OOH en adduit EMPO-OH.

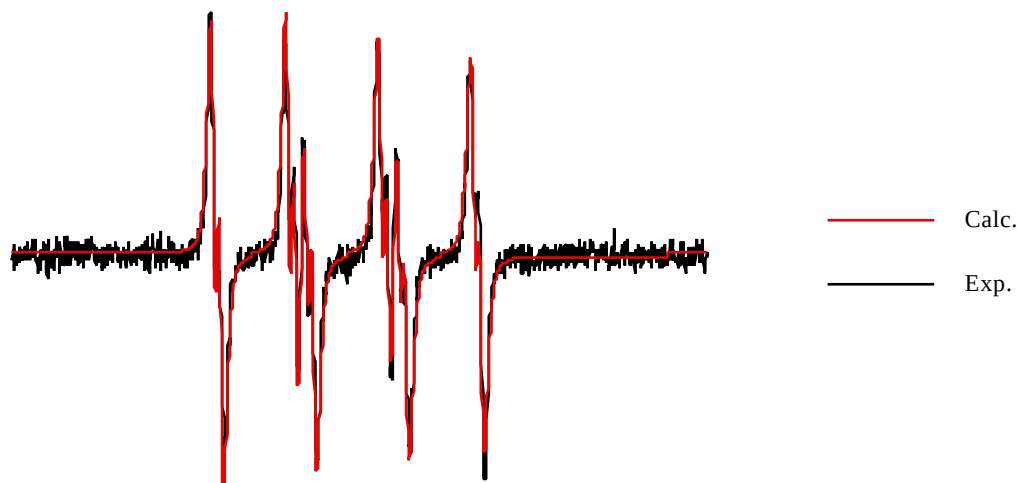


Figure 3-19 : Spectre RPE de l'adduit EMPO-OOH (Tampon phosphate pH 5,6)

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_2O_2 30 % / hv		13,4	11,2	1,0

Tableau 3-12 : Paramètres des spectres RPE de l'adduit EMPO-OOH

3.2.4.3. Piégeage du radical méthyle et du radical $\text{CO}_2^{\bullet-}$

Le radical méthyle a été produit par ajout de DMSO lors d'une réaction de Fenton. Le spectre RPE de l'adduit EMPO-CH_3 obtenu présente six raies (Figure 3-20), ses caractéristiques sont présentées dans le Tableau 3-13. Dans ce cas, on observe un seul diastéréoisomère.

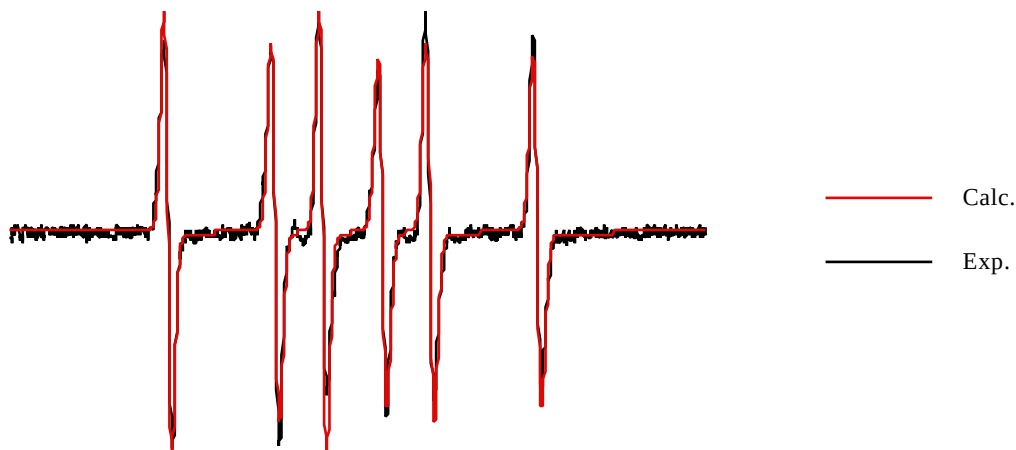


Figure 3-20 : Spectre RPE de EMPO-CH_3 (Tampon phosphate pH 5,6)

Lors de la réaction de Fenton, l'ajout de formiate de sodium nous a permis d'obtenir l'adduit carboxylé EMPO-CO_2^- à pH 5,6 et pH 7,0. Le signal se présente là aussi sous forme de six raies (Figure 3-21), correspondant à l'observation d'un seul diastéréoisomère. Les caractéristiques RPE sont présentées dans le Tableau 3-13.

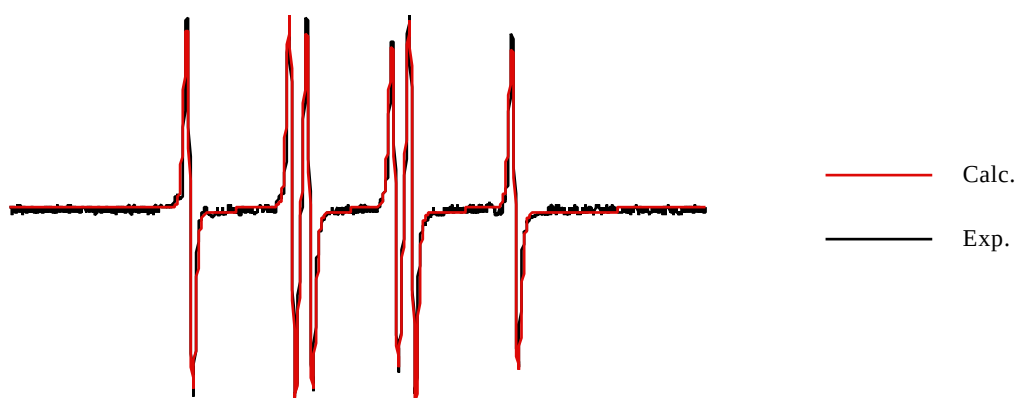


Figure 3-21 : Spectre RPE de l'adduit EMPO-CO₂⁻ (Tampon phosphate pH 7,0)

Radical	Source	pH	a_N /G	$a_{H\beta}$ /G
CH ₃ •	Fenton+DMSO	5,6	15,4	22,3
		7,0	15,4	22,3
CO ₂ ⁻ •	Fenton+formiate	5,6	14,8	17,2
	de sodium	7,0	14,8	17,2

Tableau 3-13 : Paramètres des spectres RPE de l'adduit EMPO-CH₃ et EMPO-CO₂⁻

3.2.4.4. Autres radicaux

Nous avons piégé le radical glutathionyle, obtenu par photolyse du glutathion oxydé, en tampon phosphate à pH 5,6 et pH 7,0. On obtient alors un quadruplet (Figure 3-22) dont les raies sont très larges. La simulation de ce spectre RPE fait intervenir la participation de deux diastéréoisomères dont l'un est nettement majoritaire (supérieur à 96 % quel que soit le pH) (Tableau 3-14).

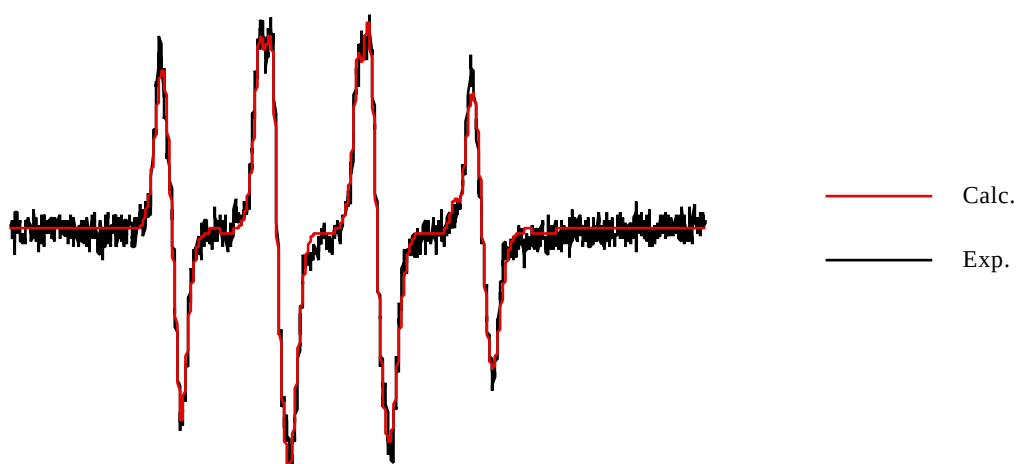


Figure 3-22 : Spectre de l'adduit EMPO-SG (Tampon phosphate pH 7,0)

Le radical *tertiobutylperoxy* ($t\text{BuOO}^\bullet$) a été produit par photolyse d'hydroperoxyde de *tertiobutyle* (à 70 % dans l'eau). On obtient un spectre à 4 massifs (Figure 3-23) dont la complexité des raies centrales est similaire à celle de l'adduit EMPO-OOH (§ 3.2.4.2)

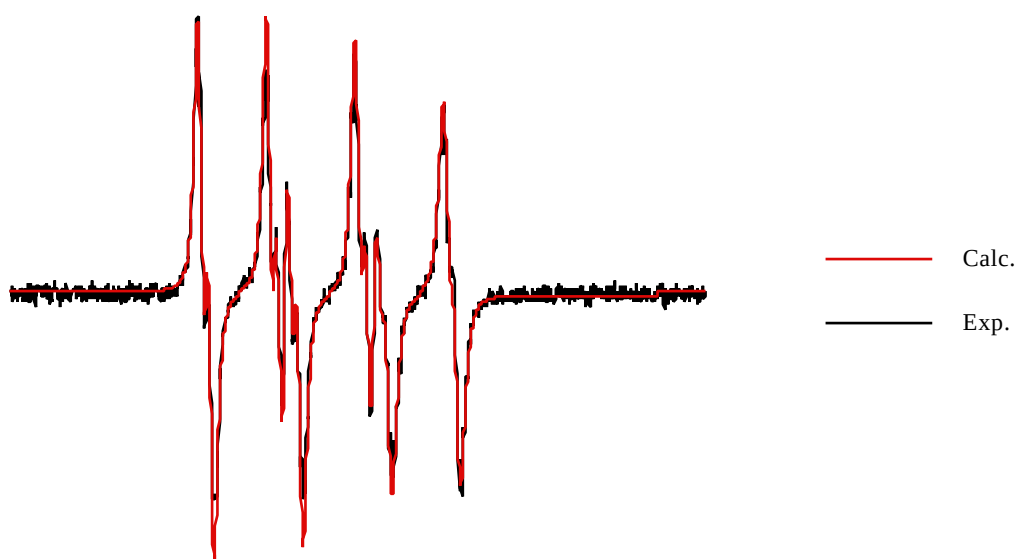


Figure 3-23 : Spectre RPE de l'adduit EMPO-OOtBu dans l'hydroperoxyde de *tertiobutyle* 70 % dans l'eau

Enfin, nous avons piégé le radical $\text{SO}_3^{\bullet-}$ par ajout de sulfite de sodium lors de la réaction de Fenton à pH 5,6 et pH 7,0. Le spectre correspondant au piégeage réalisé à pH 5,6 n'a pu être simulé à cause du mauvais rapport signal sur bruit. A pH 7,0, nous obtenons un spectre à 6 raies, chacune d'intensité 1 (Figure 3-24). Là aussi nous n'observons qu'un seul diastéréoisomère.

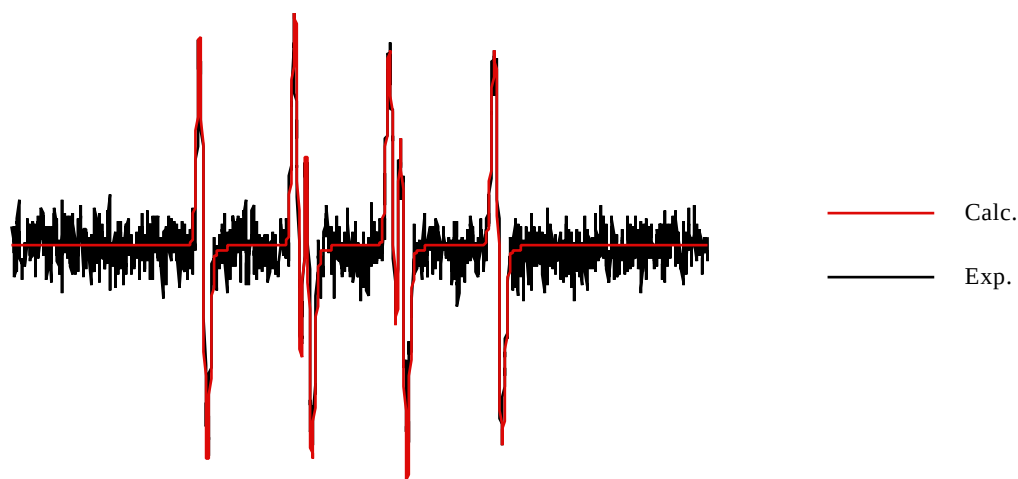


Figure 3-24 : Spectre RPE de l'adduit EMPO-SO₃⁻ (Tampon phosphate pH 7,0)

Le Tableau 3-14 résume les caractéristiques spectrales des trois radicaux ci-dessus.

Radical	Source	pH	%	a_N /G	$a_{H\beta}$ /G	$a_{H\gamma}$ /G	$a_{H\delta}$ /G
GS [•]	GSSG / hν	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 / hν			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	

Tableau 3-14 : Paramètres des spectres RPE de différents adduits obtenus avec l'EMPO

3.2.4.5. Etude cinétique de la décroissance de l'adduit du superoxyde sur l'EMPO

Pour produire le superoxyde nous avons utilisé le système riboflavine / lumière / DTPA en éclairant cette fois directement dans la solution à l'aide d'une diode (lumière bleue, 430 nm). En effet, dans ce cas, du fait notamment de la présence d'adduits carbonés, nous avons rencontré des difficultés pour utiliser le système habituel d'éclairage décrit plus haut. Les cinétiques de disparition de l'adduit EMPO-OOH ont été réalisées en tampon phosphate 0,1M à pH 5,6 et pH

7,0. Pour cela, nous avons travaillé à champ fixe, en suivant la décroissance de la deuxième raie à champ faible du spectre RPE. Pour être en mesure d'établir des comparaisons avec la DMPO et la DEPMPO, nous avons également effectué des mesures dans des conditions opératoires analogues pour ces deux nitrones.

A pH 5,6, pour modéliser les courbes de décroissance, nous avons employé un modèle cinétique incluant un mélange de premier et de deuxième ordre (qui peut être un processus de dismutation) selon l'équation $-d[SA]/dt = k_a[SA] + k_b[SA]^2$. Le temps de demi-vie de chaque espèce a été calculé sur la base du processus de premier ordre. A cette valeur de pH, nous avons trouvé pour l'adduit EMPO-OOH un temps de demi-vie 4,7 fois plus faible que pour l'adduit DEPMPO-OOH, mais 16,8 fois supérieur à celui de l'adduit DMPO-OOH. A pH 7,0, il ne nous a pas été nécessaire de tenir compte d'un processus d'ordre 2 et nous avons modélisé les cinétiques de décroissance en considérant uniquement un phénomène d'ordre 1. Dans ces conditions, l'adduit EMPO-OOH est 3,8 fois moins persistant que DEPMPO-OOH mais 8,2 fois plus persistant que DMPO-OOH. On observe toutefois une variation significative des temps de demi-vie relatifs des adduits DMPO-OOH et DEPMPO-OOH ($t_{1/2} \text{ DEPMPO} / t_{1/2} \text{ DMPO} \approx 31$ à pH 7,0) par rapport aux valeurs obtenues avec le système utilisé précédemment. Ceci peut provenir de différences de concentrations en riboflavine réduite et en superoxyde selon le système d'éclairage employé, la sensibilité des adduits DMPO-OOH et DEPMPO-OOH vis-à-vis de l'un ou l'autre de ces réducteurs pouvant être différente^{61,62}. On peut envisager de pallier à ce problème en utilisant un autre système de production du superoxyde, compatible avec l'établissement de cinétiques de disparition et ne faisant pas intervenir d'activation par la lumière.

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

Tableau 3-15 : Stabilité relative de l'adduit EMPO-OOH

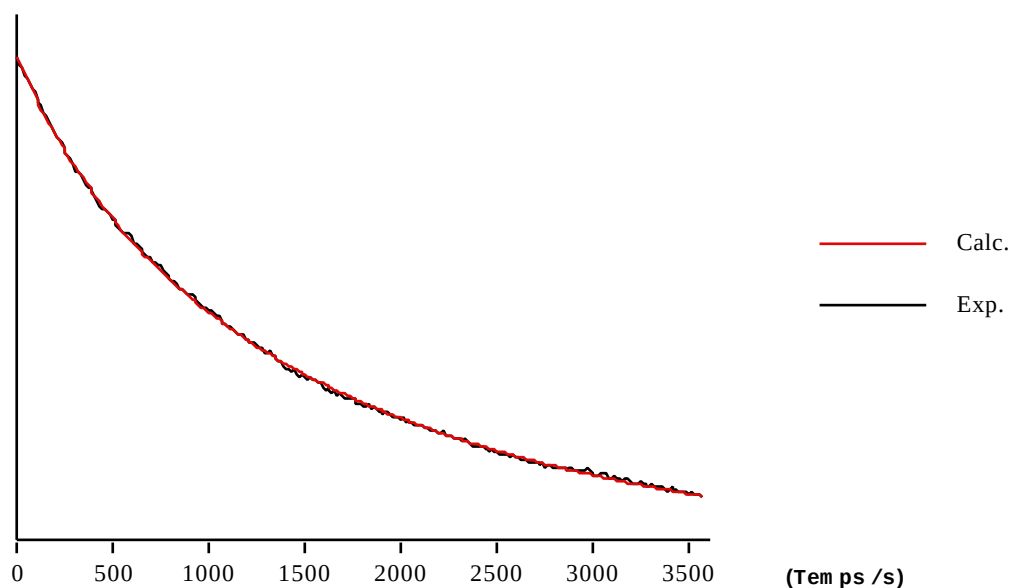


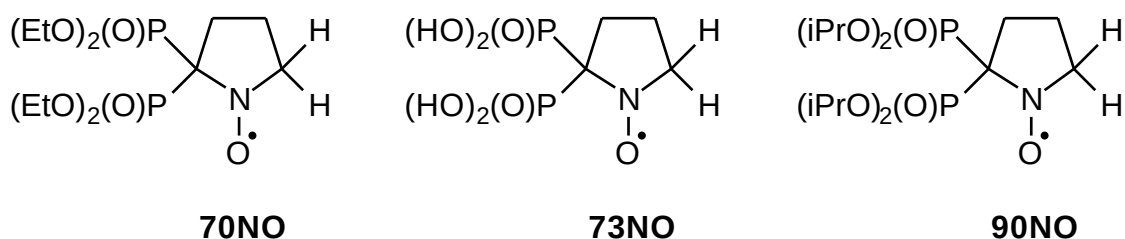
Figure 3-25 : Courbe de décroissance de EMPO-OOH (Tampon phosphate pH 5,6)

3.2.4.6. Conclusion sur le piégeage avec l'EMPO

Le comportement général de cette nitrone se rapproche plus de celui de la DEPMPO que de la DMPO. L'adduit EMPO-OOH reste environ 4 fois moins stable que l'adduit DEPMPO-OOH mais est beaucoup plus persistant que DMPO-OOH (8 fois plus stable à pH 7,0). De plus, tout comme la DEPMPO, l'EMPO ne présente pas les inconvénients que l'on observe dans le cas de la DMPO : addition nucléophile de l'eau, décomposition de l'adduit du superoxyde en adduit hydroxyle. Contrairement à la DMPO, on n'observe pas de signaux artéfactuels dus à une mauvaise stabilité en milieu aqueux dans les conditions physiologiques. On peut par ailleurs envisager de moduler la liposolubilité de l'EMPO en faisant varier la chaîne alkyle portée par la fonction ester.

3.2.5. Etudes RPE sur les nitroxydes de 70, 73 et 90

Les nitroxydes notés **70NO**, **73NO** et **90NO** ont été obtenus par oxydation respectivement des pyrrolidines gem-diphosphorées **70**, **73** et **90**, en présence d'acide *mé*ta-chloroperbenzoïque.



3.2.5.1. Etude conformationnelle sur les nitroxydes 70NO et 90NO

Une étude théorique des phénomènes d'échanges conformationnels sur ces nitroxydes pyrrolidiniques diphosphorés a été réalisée par A. Rockenbauer. Dans le cadre de cette étude, nous avons préparé les nitroxydes **70NO**, **90NO** et **91NO** puis réalisé les études RPE à température variable dans différents solvants. Nous rapportons ici les conclusions déjà publiées de son travail concernant le nitroxyde **70NO**⁷⁹. L'analyse conformationnelle portant sur les nitroxydes **90NO** et **91NO** est en cours. La modélisation a été effectuée à l'aide des programmes EPR et RING du Pr. Rockenbauer⁷⁵.

a. Cas du nitroxyde **70NO**

A "température élevée", 293 K, on observe un spectre RPE de 27 raies bien résolues (triplet de triplet) (Figure 3-26). Dans les triplets relatifs aux hydrogènes et aux phosphores, les raies ne sont pas dans le rapport 1:2:1, la hauteur des raies centrales étant inférieure à la valeur attendue. A cette température, les constantes de couplage des deux atomes de phosphore sont cependant très voisines, ainsi que celles des deux atomes d'hydrogène.

A plus basse température, on observe que l'élargissement de ces raies devient plus important et, vers 200 K dans le dichlorométhane, de nouvelles raies (B et B') apparaissent près de la position correspondant aux raies centrales de ces triplets.

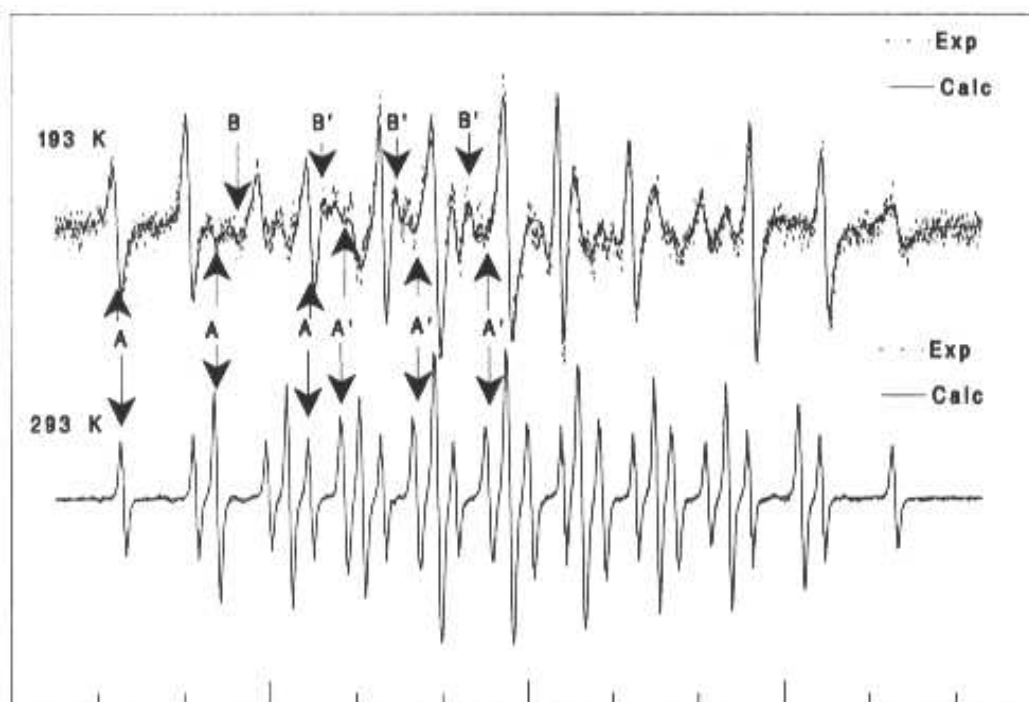


Figure 3-26 : Spectre RPE de **70NO** dans le dichlorométhane

Dans le cas de **70NO**, l'élargissement des raies a été analysé en prenant en compte à la fois les phénomènes d'échanges conformationnels et de relaxation. De plus, dans le domaine des "hautes températures", la largeur de raie est affectée par des couplages lointains mal résolus. Le modèle qui a été établi pour rendre compte des phénomènes observés implique l'échange entre quatre sites conformationnels non équivalents (deux pour l'inversion du cycle pyrrolidinique et deux pour la rotation autour des liaisons C-P). Ce modèle est décrit avec précision dans la publication citée ci-dessus⁷⁹. Le calcul des constantes de couplage, au phosphore et à l'hydrogène, aux différentes températures étudiées montre qu'au-dessus de 250 K on n'observe que deux couplages significativement différents pour chacun des deux noyaux. En-dessous de 250 K (dans le dichlorométhane), la situation devient différente et on trouve deux paires de constantes de couplage nettement différenciées pour chaque type de noyau (hydrogène et phosphore) correspondant à l'existence de quatre sites conformationnels.

De l'étude à température variable, grâce à la loi d'Arrhénius, nous pouvons déduire que la valeur de la barrière de potentiel pour l'inversion du cycle est de 27 kJ.mol⁻¹ et que la barrière de rotation pour la liaison C-P est de 6 kJ.mol⁻¹. A haute température, la fréquence d'inversion du cycle est de l'ordre de 10¹⁰ Hz, la rotation autour des liaisons C-P est totalement libre et l'élargissement des raies est d'abord attribuable à l'inversion de cycle. Dans le régime des basses températures, à partir de 220 K, du fait de la barrière élevée pour l'inversion de cycle, la rotation autour des liaisons C-P devient alors le facteur prédominant de l'élargissement des raies.

L'étude conformationnelle indique que le cycle est sous forme twist ³T₄ déformée vers une enveloppe E₄.

Il est important de remarquer que généralement dans un radical libre la pseudo-rotation d'un cycle à 5 chaînons est un phénomène très rapide qui ne se traduit pas par l'élargissement des raies du spectre RPE⁷⁶. Dans le cas présent, c'est la présence de larges couplages hyperfins avec les atomes de phosphore qui contribue à détecter la pseudo-rotation du cycle ; en effet, l'élargissement des raies RPE est proportionnel au carré de la différence entre les constantes de couplage des sites en échange.

b. Cas du nitroxyde **90NO**

Comme nous l'avons déjà dit en introduction, les études sur **90NO** et **91NO** sont en cours de réalisation par A. Rockenbauer. Les premiers résultats montrent que la présence de groupements diisopropoxyphosphoryle ralentit significativement les échanges conformationnels. Ce phénomène est encore plus accentué dans le benzène : ceci pourrait être dû à une complexation π entre le benzène et le radical, comme cela a été rapporté par Burnett⁸⁵.

La libre rotation du groupement phosphoryle est ralentie d'un facteur proche de 6 à 283 K quand on passe de groupements diéthoxyphosphoryle à diisopropoxyphosphoryle. A la même température pour le nitroxyde **90NO**, le remplacement du dichlorométhane par du benzène comme solvant ralentit la rotation autour de la liaison C-P d'un facteur 4.

3.2.5.2. Etude des effets de solvant sur les spectres RPE de 70NO et 90NO

Nous avons étudié à température ambiante le nitroxyde **70NO** dans 11 solvants. Les caractéristiques des spectres RPE obtenues sont présentées sur le Tableau 3-16. Comme nous avons réalisé cette étude à température ambiante, la pseudo-rotation du cycle reste suffisamment élevée (et l'élargissement des raies faible) pour permettre, en première approche, de simuler les spectres RPE sans prendre en compte les phénomènes d'échange conformationnel.

Nous n'avons pas noté de grande variation dans les constantes de couplage lorsqu'on passe de solvants aprotiques à des solvants protiques, la variation restant faible même dans le cas de l'eau. Nous n'avons pas pu établir de corrélation entre la polarité du solvant (utilisation du E(T)N) et la variation des constantes de couplage. La variation du facteur de Landé g est faible elle aussi, et là non plus nous ne mettons pas en évidence de corrélation entre le E(T)N et le facteur g .

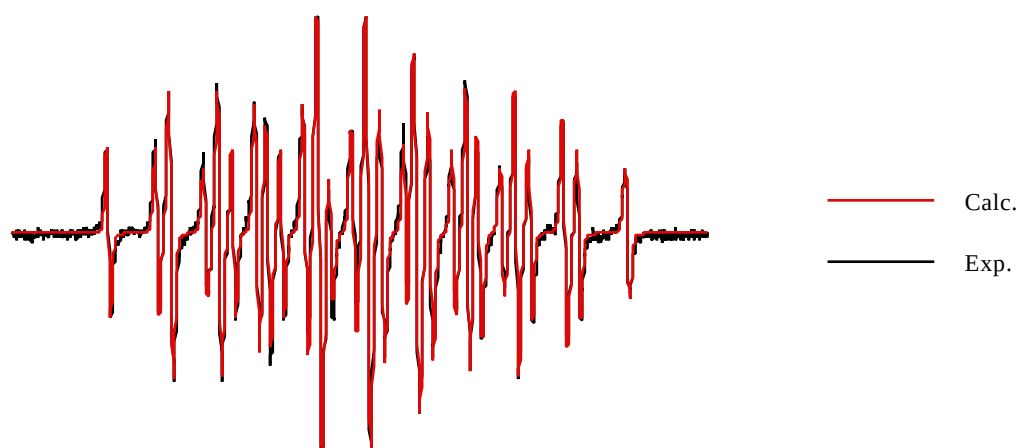


Figure 3-27 : Spectre RPE de **70NO** dans le benzène

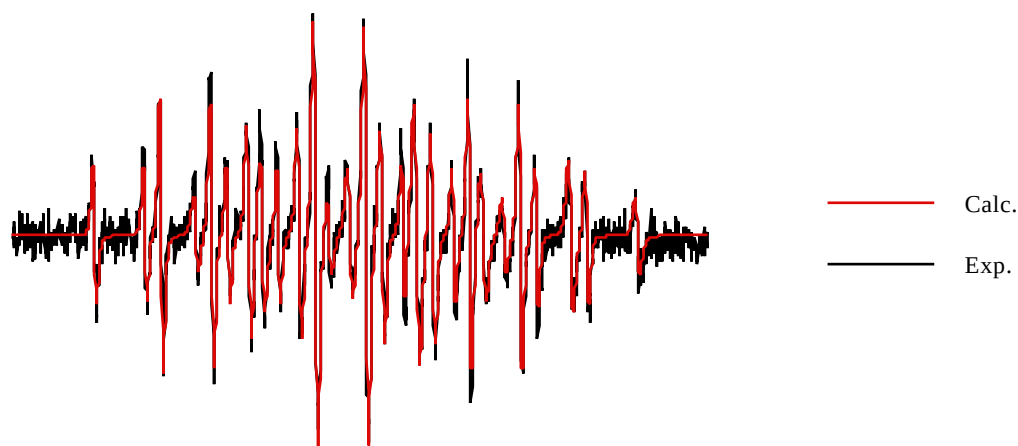


Figure 3-28 : Spectre RPE de **70NO** dans l'eau

Solvant (E(T)N)	a_N /G	a_{H1} /G	a_{H2} /G	a_{p1} /G	a_{p2} /G	long. /G	g
Tétrachlorure de carbone (0,0052)	13,9	18,1	17,6	42,7	41,9	148,1	2,0060 ₀
Toluène (0,099)	13,9	18,1	17,7	42,8	42,1	148,6	2,0060 ₁
Acétonitrile (0,46)	14,0	18,2	17,7	42,8	42,1	148,8	2,0059 ₄
Hexane (0,009)	13,9	18,2	17,6	43,0	42,2	148,9	2,0060 ₁
Benzène (0,111)	13,9	18,2	17,7	43,0	42,3	149,1	2,0060 ₀
Diméthoxyméthane	13,9	18,1	17,7	42,9	42,2	148,8	2,0060 ₁
Diméthylformamide (0,4)	14,0	18,2	17,6	43,0	42,3	149,3	2,0060 ₁
Dichlorométhane (0,31)	14,0	18,3	17,9	43,1	42,4	149,8	2,0059 ₈
Ethanol (0,65)	14,0	18,3	17,9	43,5	42,7	150,4	2,0058 ₂
Acide acétique (0,65)	14,1	18,6	18,2	44,0	43,3	152,4	2,0059 ₇
Eau (1)	14,5	19,2	19,1	44,6	44,0	156,0	2,0058 ₀

Tableau 3-16 : Paramètres des spectres RPE du radical **70NO** dans différents solvants

Au paragraphe précédent, nous indiquons un ralentissement des échanges conformationnels pour le nitroxyde **90NO**. Nous avons réalisé le spectre de ce radical dans le dichlorométhane et dans le benzène, et dans les deux cas nous avons été obligés de tenir compte de ces échanges. Les raies pour lesquelles $m_I^{H1} + m_I^{H2} = 0$ ou $m_I^{p1} + m_I^{p2} = 0$ (ou la somme des deux) sont élargies,

l'élargissement étant plus fort dans le benzène que dans le dichlorométhane (Figure 3-29 et Figure 3-30). Les résultats obtenus corroborent ceux de l'étude conformationnelle rapportée précédemment pour le radical **70NO**.

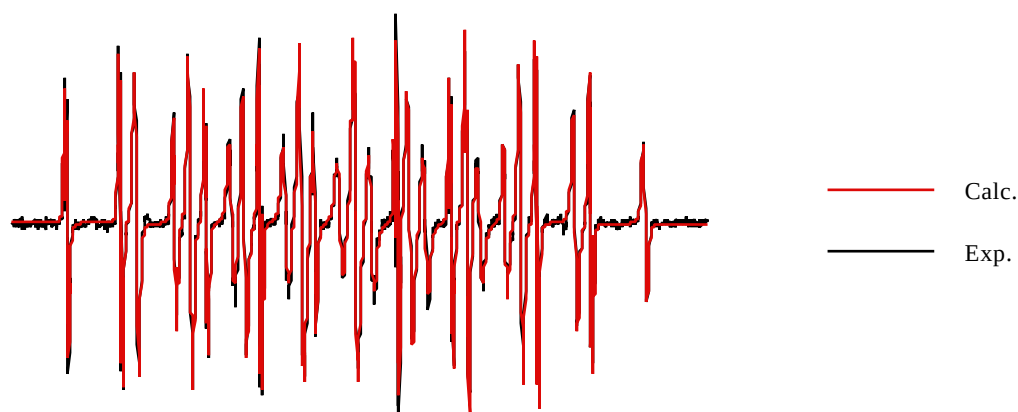


Figure 3-29 : Spectre RPE de **90NO** dans le dichlorométhane (25°C)

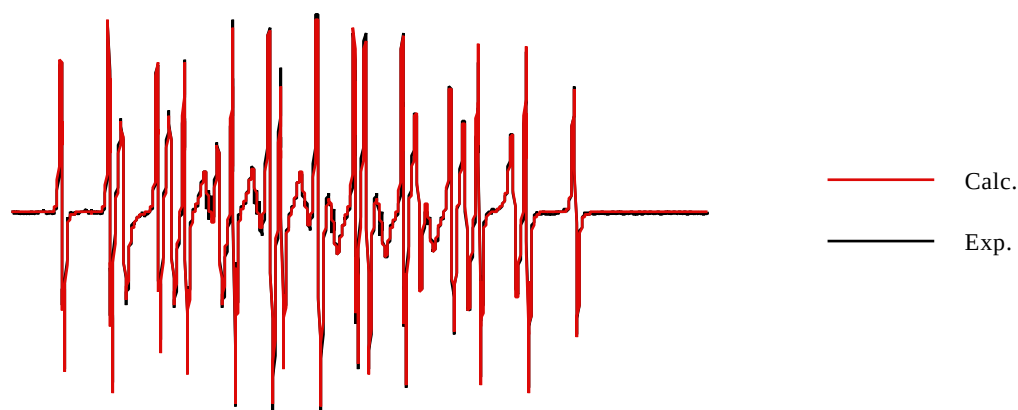


Figure 3-30 : Spectre RPE de **90NO** dans le benzène (25°C)

	Dichlorométhane		Benzène	
a_N /G	13,9	14,3	13,8	13,8
a_{H1} /G	18,8	16,3	18,5	15,6
a_{H2} /G	17,2	19,9	17,1	19,9
a_{P1} /G	44,4	40,0	43,6	38,8
a_{P2} /G	41,2	45,3	41,1	44,9
Autres couplages	0,3 (2)		0,4 (2)	
/G	0,4 (2)		0,4 (2)	
g	2,0060	2,0060	2,0060	2,0060
Population	0,682	0,318	0,655	0,345
τ d'échange /ns	11,1		38,5	

Tableau 3-17 : Paramètres des spectres RPE du radical **90NO** dans différents solvants (25°C)

3.2.5.3. Etude du nitroxyde **73NO**

A cause de sa mauvaise solubilité dans la plupart des solvants, nous n'avons pu réaliser l'étude du radical **73NO** que dans des solutions aqueuses basiques. A pH 13, dans la soude nous obtenons un spectre à 21 raies (Figure 3-31) dont les caractéristiques spectrales sont présentées dans le Tableau 3-18. En supposant que son pK_{a4} est inférieur à 11^{86,87}, le nitroxyde **73NO** est sous forme de sel tétrasodique.

Lorsqu'on compare, dans l'eau, ce nitroxyde avec **70NO**, on constate des différences significatives des constantes de couplage avec l'atome d'azote et des facteurs de Landé ($a_N = 16,1$ G, $g = 2,0054_1$ pour **73NO** et $a_N = 14,5$ G, $g = 2,0058_0$ pour **70NO**). Ce changement résulte d'un fort effet inducteur donneur du groupement phosphonato qui favorise la forme mésomère b du Schéma 1-19 de la page 35. Normalement cette augmentation du couplage à l'azote a_N s'accompagne d'une augmentation du couplage au phosphore a_P . En fait, c'est le contraire que nous constatons, c'est-à-dire une diminution ($a_P = 40,6$ G pour **73NO** et $a_P = 44,3$ G pour **70NO**) : ceci peut être relié à la diminution de la constante B dans l'équation de McConnell ($a_P = B_p \cos^2 \theta$; $B_p = B \times \rho_n$, B = constante de transmission de spin par hyperconjugaison, ρ_n = densité de spin sur l'azote), plutôt qu'à un changement de conformation.

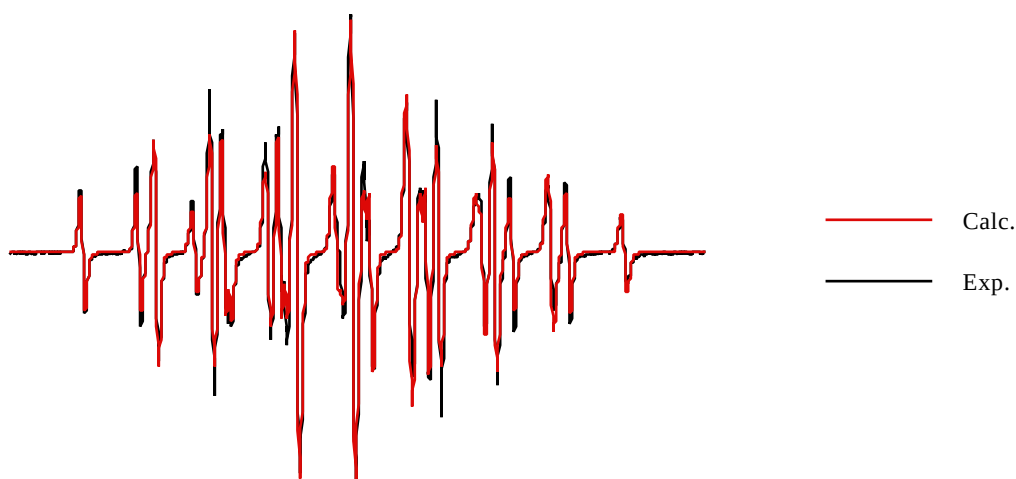


Figure 3-31 : Spectre RPE du radical **73NO** à pH 13 (NaOH / H₂O)

Solvant	a_N /G	a_{H1} /G	a_{H2} /G	a_{p1} /G	a_{p2} /G	g
Soude aqueuse (pH 13)	16,1	21,1	21,0	40,4	40,9	2,0054 ₁

Tableau 3-18 : Paramètres du spectre RPE de **73NO**

3.2.5.4. Conclusion sur les différentes études portant sur les nitroxydes 70NO, 73NO et 90NO

Ce type de molécule n'était pas décrit avant nos études. Plusieurs membres de cette famille de radicaux présentent des phénomènes d'échange conformationnel intéressants et la présence des groupements phosphorés géminés permet d'observer la pseudo-rotation du cycle pyrrolidinique. Il est intéressant de constater que malgré l'existence de deux hydrogènes portés par le carbone en α de la fonction nitroxyle (favorisant la réaction de dismutation), les nitroxydes **70NO**, **73NO** et **90NO** sont tous les trois persistants pendant plusieurs jours.

3.3. CONCLUSION SUR LE SPIN-TRAPPING

Nos expériences de spin-trapping ont permis de comparer les performances des trois nouvelles nitrones ci-dessous : (Schéma 3-38)

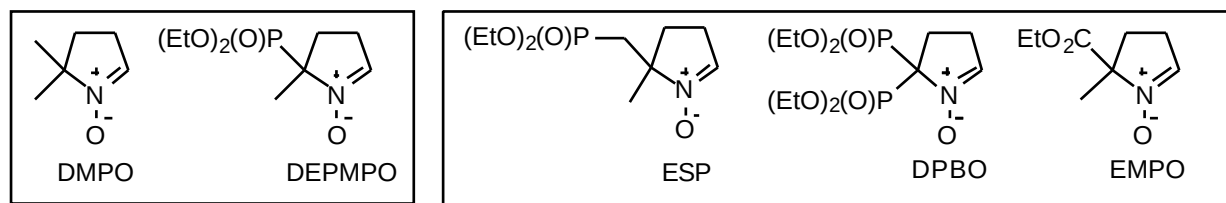


Schéma 3-38 : Nitrones utilisées lors de nos expériences de spin-trapping

3.3.1. Piégeage du superoxyde

La formation du superoxyde est le premier acte dans la séquence de réactions pouvant aboutir à une situation de stress oxydatif. La détection et le dosage de ce radical sont primordiaux pour évaluer son rôle dans diverses situations physiopathologiques. C'est donc essentiellement par rapport au piégeage du radical superoxyde que nous avons comparé les nitrones ci-dessus.

Dans la nitron ESP, l'introduction d'un groupement méthylène comme espaceur entre le cycle 3,4-dihydro-2H-pyrrole et le groupement diéthoxyphosphoryle a des conséquences importantes sur le piégeage du superoxyde. Les performances de ESP sont plus proches de celles de la DMPO que de celles de la DEPMPO. Ainsi à pH 7 dans un tampon phosphate 0,1 M le temps de demi-vie de l'adduit ESP-OOH n'est que de 138 s (780 s pour DEPMPO-OOH et 50 s pour DMPO-OOH) et sa décomposition s'accompagne de la formation de l'adduit ESP-OH.

On peut faire des hypothèses susceptibles d'expliquer ce résultat. Krishna *et al.*⁸⁸ ont montré que les nitroxydes sont capables de catalyser la dismutation du superoxyde selon le processus présenté sur le Schéma 3-39.

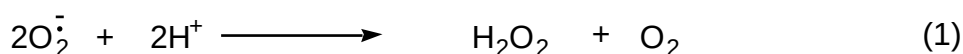
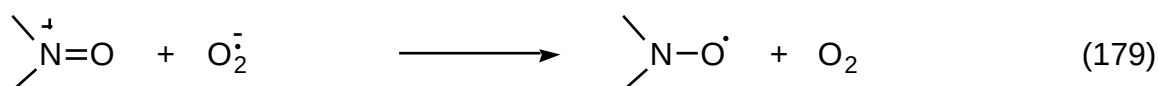
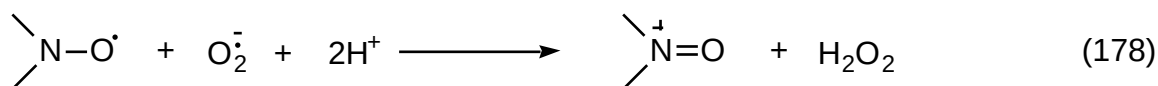


Schéma 3-39 : Dismutation du superoxyde catalysée par un nitroxyde

En présence de NADH et de $O_2^{\bullet-}$, les auteurs ont pu mettre en évidence la réduction (à deux électrons) d'une forme oxydée du nitroxyde : (Schéma 3-40)

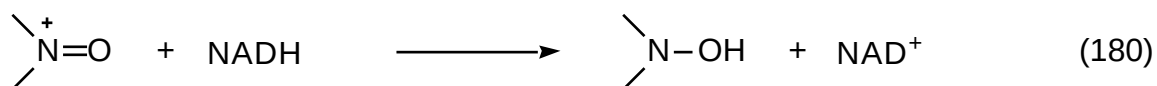
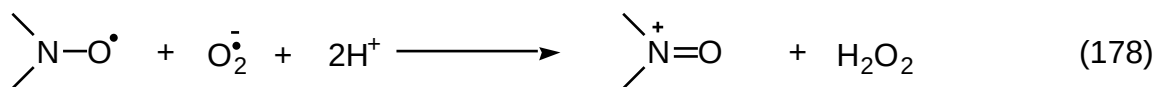


Schéma 3-40 : Réduction de l'oxoammonium par la NADH

La vitesse de réduction diminue lorsque le potentiel d'oxydation du nitroxyde augmente (Tableau 3-19).

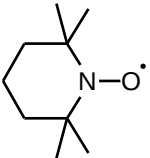
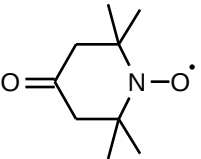
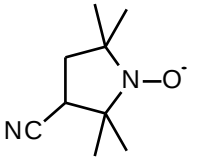
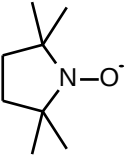
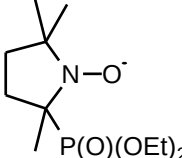
Nitroxyde	$E_{1/2}^{Ox}$ (apparent) /mV, versus NHE	Vitesse relative de réduction (selon le Schéma 3-40)	Réf.
	722	1,0	88
	913	0,33	88
	976	0,02	88
	779	-	89
	1042	-	89

Tableau 3-19 : Potentiel d'oxydation et vitesse de réduction
de quelques nitroxydes

Lors des essais de piégeage par une nitrone du superoxyde, celui-ci est produit sur une courte période de temps et sa concentration est certainement toujours importante par rapport à la concentration de l'adduit de spin correspondant. Il est raisonnable de penser que l'une des

principales voies de disparition de l'adduit de spin, résulte de son oxydation par le superoxyde en cation oxoammonium suivie soit de la décomposition de ce dernier soit de sa réduction en hydroxylamine.

Si l'on examine l'influence d'un groupe diéthoxyphosphoryle directement lié à un C_α de la fonction nitroxyle sur le potentiel d'oxydation (Tableau 3-19), on peut comprendre qu'en présence de $O_2^{\bullet-}$ la persistance de l'adduit DEPMPO-OOH soit beaucoup plus grande que celle de l'adduit DMPO-OOH.

En ce qui concerne l'adduit ESP-OOH on peut s'attendre à ce que l'éloignement du groupe diéthoxyphosphoryle rende son oxydation en cation oxoammonium plus facile que pour l'adduit DEPMPO-OOH. Dès lors, il est logique que l'adduit ESP-OOH ait un comportement proche de celui de l'adduit DMPO-OOH.

Le comportement de l'adduit EMPO-OOH est en accord avec l'hypothèse développée ci-dessus. En effet on peut raisonnablement penser que l'effet électroattracteur exercé par le groupe $-CO_2Et$ est inférieur à celui exercé par le groupe $-P(O)(OEt)_2$, dont l'effet est équivalent à celui d'un groupe $-CF_3$ ⁹⁰. En conséquence on observe pour l'adduit EMPO-OOH un comportement plus proche de celui de l'adduit DEPMPO-OOH que de celui de l'adduit DMPO-OOH.

En ce qui concerne l'adduit DPBO-OOH nous n'avons pas pu réaliser de mesures reproductibles de son temps de demi-vie. D'après l'hypothèse développée ci-dessus le temps de demi-vie de DPBO-OOH aurait dû être le plus élevé. La présence de deux groupes $-P(O)(OEt)_2$ fortement électroattracteur et très encombrants stériquement est susceptible d'induire d'autres mécanismes de décomposition qui restent à élucider.

3.3.2. Piégeage d'autres radicaux

En ce qui concerne la détection par RPE des adduits de spin de divers radicaux ($Me^{\bullet}$, $CO_2^{\bullet-}$, $GS^{\bullet}$), on peut dire que les nitrones étudiées (ESP, DPBO, EMPO) ont des comportements globalement identiques à ceux de la DMPO et de la DEPMPO.

3.4. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- (1) Blondin, G.; Frapart, Y.-M. *L'actualité chimique* **1996**, 7, 112-124.
- (2) Janzen, E. G. In *Free Radical in Biology*; W. A. Pryor, Ed.; Academic Press: New York, **1980**; Vol. 4; pp 115-154.
- (3) Buettner, G. R.; Oberley, L. W. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1978**, 83, 69-74.
- (4) Anderson Evans, C. *Aldrichima Acta* **1979**, 12, 23-29.
- (5) Perkins, M. J. In *Advances in Physical Organic Chemistry*; V. Gold and D. Bethell, Ed.; Academic Press: London, New York, **1980**; Vol. 17; pp 1-64.
- (6) Terabe, S.; Konaka, R. *J. Chem. Soc. Perkins Trans. 2* **1973**, 369-374.
- (7) Terabe, S.; Kuruma, K.; Konaka, R. *J. Chem. Soc. Perkins Trans. 2* **1973**, 1252-1258.
- (8) Vila, F.; Boyer, M.; Gronchi, G.; Duccini, Y.; Santero, O. *Tetrahedron Lett.* **1984**, 25, 2215-2218.
- (9) Cerri, V.; Frejaville, C.; Vila, F.; Allouche, A.; Gronchi, G.; Tordo, P. *J. Org. Chem.* **1989**, 54, 1447-1450.
- (10) Kaur, H.; Leung, K. H. W.; Perkins, M. J. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1981**, 142-143.
- (11) Wargon, J. A.; Williams, F. *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, 94, 7917-7918.
- (12) Fréjaville, C.; Karoui, H.; Tuccio, B.; Le Moigne, F.; Culcasi, M.; Pietri, S.; Lauricella, R.; Tordo, P. *J. Med. Chem.* **1995**, 38, 258-265.
- (13) Paller, M. S.; Hoidal, J. R.; Ferris, T. F. *Jour. Clin. Invest.* **1984**, 74, 1156-1164.
- (14) Janzen, E. G.; Blackburn, B. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, 90, 5909-5910.
- (15) Janzen, E. G.; Blackburn, B. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, 91, 4481-4490.
- (16) Torsell, K. B. G. *Nitrile Oxides, Nitrones, and Nitronates in Organic Synthesis. Novel Strategies in Synthesis*; VCH Publisher: New York, **1988**.
- (17) Janzen, E. G.; Zhang, Y.-K.; Arimura, M. *Chem. Lett.* **1993**, 497-500.
- (18) Turner III, M. J.; Rosen, G. M. *J. Med. Chem.* **1986**, 29, 2439-2444.
- (19) Janzen, E. G.; West, M. S.; Kotake, Y.; DuBose, C. M. *J. Biochem. Biophys. Methods* **1996**, 32, 183-190.
- (20) Konaka, R.; Kawai, M.; Noda, H.; Kohno, M.; Niwa, R. *Free Rad. Res.* **1995**, 23, 15-25.
- (21) Janzen, E. G.; Zhang, Y.-K. *J. Org. Chem.* **1995**, 60, 5441-5445.
- (22) Kohno, M.; Mizuta, Y.; Kusai, M.; Masumizu, T.; Makino, K. *Bull. Chem. Soc. Jpn* **1994**, 67, 1085-1090.
- (23) Buettner, G. R. *Free Radical Biology & Medicine* **1987**, 3, 259-303.
- (24) Misik, V.; Miyoshi, N.; Riesz, P. *J. Phys. Chem.* **1995**, 99, 3605-3611.

- (25) Miura, Y.; Ueda, J.-i.; Ozawa, T. *Inorganica Chimica Acta* **1995**, 234, 169-171.
- (26) Hiramoto, K.; Johkoh, H.; Sako, K.-I.; Kikugawa, K. *Free Rad. Res. Comms.* **1993**, 19, 323-332.
- (27) Janzen, E. G.; Zhang, Y.-K.; Arimura, M. *J. Org. Chem.* **1995**, 60, 5434-5440.
- (28) Janzen, E. G.; Zhang, Y.-K.; Haire, D. L. *Magnetic Resonance in Chemistry* **1994**, 32, 711-720.
- (29) Sankuratri, N.; Kotake, Y.; Janzen, E. G. *Free Radical Biology & Medicine* **1996**, 21, 889-894.
- (30) Yamazaki, I.; Piette, L. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 7588-7593.
- (31) Bors, W.; Michel, C.; Stettmaier, K. *J. Chem. Soc. Perkins Trans. 2* **1992**, 1513-1517.
- (32) Rosen, G. M.; Rauckman, E. J. *Methods in Enzymology* **1984**, 105, 198-209.
- (33) Bielski, B. H.; Cabell, D. E.; Arudi, R. L. *J. Phys. Chem. Ref. Data* **1985**, 14, 1041-1100.
- (34) Rosen, G. M.; Finkelstein, E.; Rauckman, E. *Arch. Biochem. Biophys.* **1982**, 215, 367-378.
- (35) Towell, J.; Kalyanaraman, B. *Anal. Biochem.* **1991**, 196, 111-119.
- (36) Finkelstein, E.; Rosen, G. M.; Rauckman, E. J. *Arch. Biochem. Biophys.* **1980**, 200, 1-16.
- (37) Pou, S.; Hassett, D. J.; Britigan, B. E.; Cohen, M. S.; Rosen, G. M. *Anal. Biochem.* **1989**, 177, 1-6.
- (38) Buettner, G. R.; Mason, R. P. *Methods in Enzymology* **1990**, 186, 127-133.
- (39) Davies, M. J. *Biochim. Biophys. Acta* **1988**, 964, 28-35.
- (40) Makino, K.; Hagiwara, T.; Hagi, A.; Nishi, M.; Murakami, A. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1990**, 172, 1073-1080.
- (41) Finkelstein, E.; Rosen, G. M.; Rauckman, E. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, 102, 4994-4999.
- (42) Finkelstein, E.; Rosen, G. M.; Rauckman, E. J. *Mol. Pharmacol.* **1982**, 21, 262-265.
- (43) Makino, K.; Hagi, A.; Ide, H.; Murakami, A. *Can. J. Chem.* **1992**, 70, 2818-2827.
- (44) Makino, K.; Hagiwara, T.; Imaishi, H.; Nishi, M.; Fujii, S.; Ohya, H.; Murakami, A. *Free Rad. Res. Comms.* **1990**, 9, 233-240.
- (45) Janzen, E. G.; Coulter, G. A.; Oehler, U. M.; Bergsma, J. P. *Can. J. Chem.* **1982**, 60, 2725-2733.
- (46) Finkelstein, E.; Rosen, G. M.; Rauckman, E. J.; Paxton, J. *Mol. Pharmacol.* **1979**, 16, 676-685.
- (47) Chamulitrat, W.; Iwahashi, H.; Kelman, D. J.; Mason, R. P. *Arch. Biochem. Biophys.* **1992**, 296, 645-649.
- (48) Sargent, F. P.; Gardy, E. M. *Can. J. Chem.* **1976**, 54, 275-279.
- (49) Reszka, K.; Chignell, C. F. *Free Rad. Res. Comms.* **1991**, 14, 97-106.

- (50) Reszka, K.; Bilski, P.; Chignell, C. F. *Free Rad. Res. Comms.* **1992**, 17, 377-385.
- (51) Arya, P.; Stephens, J. C.; Griller, D.; Pou, S.; Ramos, C. L.; Pou, W. S.; Rosen, G. M. *J. Org. Chem.* **1992**, 57, 2297-2301.
- (52) Tuccio, B.; Lauricella, R.; Fréjaville, C.; Bouteiller, J.-C.; Tordo, P. *J. Chem. Soc. Perkins Trans. 2* **1995**, 295-298.
- (53) Karoui, H., Synthèse d'une nouvelle nitrone phosphorylée: la 5-diéthoxyphosphoryl-5-méthyl-1-pyrroline *N*-oxide (DEPMPO). Applications au piégeage *in vitro* et *in vivo* des radicaux libres centrés sur l'oxygène., Thèse de Chimie Organique, Aix Marseille III, **1994**.
- (54) Norman, R. O. C. *Electron Spin Resonance Studies of Free Radicals and Their Reactions in Aqueous Solution*; Special publication of the Chemical Society: **1970**; Vol. 24, pp 117-145.
- (55) Halliwell, B.; Gutteridge, J. M. C. *Trends Neurosci.* **1985**, 8, 22-26.
- (56) Haber, F.; Weiss, J. *Proc. R. Soc. London, Ser. A.* **1934**, 147, 332-351.
- (57) Sawyer, D. T.; Gibian, M. J. *Tetrahedron* **1979**, 35, 1471-1481.
- (58) Zhang, Y.-K.; Lu, D.-H.; Xu, G.-Z. *J. Chem. Soc. Perkins Trans. 2* **1991**, 1855-1860.
- (59) Perkins, M. J. *Radical Chemistry*; Ellis Horwood: New York, London, **1994**.
- (60) Fontecave, M.; Pierre, J. L. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1991**, 128, 505-520.
- (61) Buettner, G. R. *Free Rad. Res. Comms.* **1990**, 10, 11-15.
- (62) Mathieu, C.; Tuccio, B.; Lauricella, R.; Mercier, A.; Tordo, P. *J. Chem. Soc. Perkins Trans. 2* **1997**, 2501-2505.
- (63) Strouf, O.; Stopka, P. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1995**, 60, 851-855.
- (64) Misik, V.; Kirschenbaum, L. J.; Riesz, P. *J. Phys. Chem.* **1995**, 99, 5970-5976.
- (65) Lagercrantz, C.; Ebersson, L. *Acta Chemical Scandinava* **1995**, 49, 399-404.
- (66) Davies, M. J.; Forni, L. G.; Shuter, S. L. *Chem. Biol. Interactions* **1987**, 61, 177-188.
- (67) Roubaud, V.; Mercier, A.; Olive, G.; Le Moigne, F.; Tordo, P. *J. Chem. Soc. Perkins Trans. 2* **1997**, 9, 1827-1830.
- (68) Halliwell, B.; Gutteridge, J. M. C. *Free radicals in Biology and Medicine*; Clarendon Press: Oxford, **1989**.
- (69) Hazlewood, C.; Davies, M. J. *J. Chem. Soc. Perkins Trans. 2* **1995**, 895-901.
- (70) Gilbert, B. C.; Holmes, R. G. G.; Laue, H. A. H.; Norman, R. O. C. *Journal of Chemical Society Perkin II* **1976**, 1047-1052.
- (71) Chamilutrat, W.; Takahashi, N.; Mason, R. P. *J. Biol. Chem.* **1989**, 264, 7889-7899.
- (72) Duling, D. R.; Motten, A. G.; Mason, R. P. *J. Mag. Res.* **1988**, 77, 504-511.
- (73) Duling, D. R. *Journal of Magnetic Resonance, Series B* **1994**, 104, 105-110.
- (74) Motten, A.; Schreiber, J. *J. Mag. Res.* **1986**, 67, 42-54.
- (75) Rockenbauer, A.; Korecz, L. *Appl. Magn. Reson.* **1996**, 10, 29-43.

- (76) Rockenbauer, A.; Korecz, L.; Hideg, K. *J. Chem. Soc. Perkins Trans. 2* **1993**, 11, 2149-2156.
- (77) Lauricella, R. *Résultats non publiés*
- (78) Castellano, S.; Bothner-By, A. *Computer Programs for Chemistry*; Benjamin Publications: New-York, ; Vol. I, pp 10-39.
- (79) Rockenbauer, A.; Mercier, A.; Le Moigne, F.; Olive, G.; Tordo, P. *J. Phys. Chem. A* **1997**, 101, 7965-7970.
- (80) Adamic, K.; Bowman, D. F.; Gillan, T.; Ingold, K. U. *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, 93, 902-908.
- (81) Bowman, D. F.; Gillan, T.; Ingold, K. U. *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, 93, 6555-6561.
- (82) Bowman, D. F.; Brockenshire, J. L.; Gillan, T.; Ingold, K. U. *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, 93, 6551-6555.
- (83) Janzen, E. G.; Sankuratri, N.; Kotake, Y. *J. Mag. Res.* **1991**, 111, 254-263.
- (84) Janzen, E. G.; Zhang, Y.-K.; Haire, D. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 3738-3743.
- (85) Burnett, G. M.; Cameron, G. G.; Cameron, J. *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* **1973**, 69, 864-870.
- (86) Fleisch, H. In *Handbook of experimental pharmacology*; P. F. Baker, Ed.; Springer-Verlag: Berlin, **1988**; Vol. 83; pp 440-466.
- (87) Curry, J. D.; Nicholson, D. A. In *Topics in phosphorus chemistry*Wiley: New York, **1972**; Vol. 7; pp 37.
- (88) Krishna, M. C.; Grahame, D. A.; Samuni, A.; Mitchell, J. B.; Russo, A. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1992**, 89, 5537-5541.
- (89) Mathieu, C., Thèse de Chimie Organique, Aix Marseille I, **1997**.
- (90) Katzhendler, J.; Ringel, I.; Karaman, R.; Zaher, H.; Breuer, E. *J. Chem. Soc. Perkins Trans. 2* **1997**, 341-349.

4. CONCLUSION

Comme les maladies contagieuses, les idées neuves demandent une certaine période d'incubation avant qu'elles soient reconnues.

(Arthur Koestler, les somnambules)

L'objectif de notre travail était de contribuer à l'étude de l'influence du groupe diéthoxyphosphoryle sur le temps de demi-vie de l'adduit superoxyde DEPMPO-OOH obtenu avec la DEPMPO. Nous avons préparé diverses nitrones et étudié le piégeage du superoxyde et de quelques autres radicaux. L'examen de nos résultats permet d'ébaucher une hypothèse. Le groupement $-P(O)(OEt)_2$ rendrait difficile l'oxydation de l'adduit DEPMPO-OOH par $O_2^{\bullet-}$ pour former l'oxoammonium correspondant. Le temps de demi-vie des adduits nitron-OOH devrait être modulé par la présence de groupements plus ou moins électroattracteurs sur le C_2 du cycle 3,4-dihydro-2H-pyrrole-1-oxyle. Ceci est vérifié dans le cas de l'EMPO et devrait être confirmé par l'étude des adduits du superoxyde avec les nitrones ci-dessous (Schéma 4-1), dont les synthèses sont en cours de réalisation dans notre laboratoire.

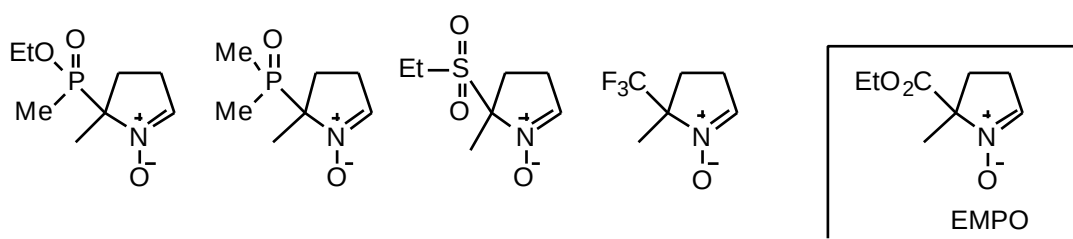


Schéma 4-1 : Nouvelles nitrones en cours de réalisation

Il serait intéressant également de pouvoir disposer en milieu aqueux d'une source lente et continue de superoxyde. Il faut signaler à ce propos la communication récente de K.U. Ingold¹ qui a montré que cet objectif était atteint avec le système suivant : (Schéma 4-2)

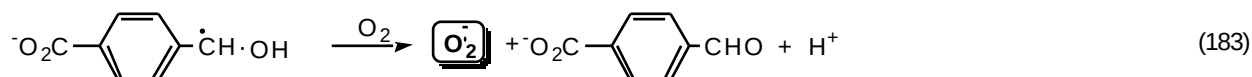
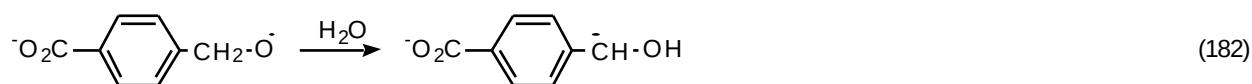
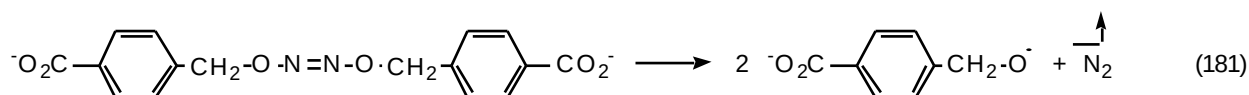


Schéma 4-2 : Nouveau système de génération du superoxyde

La formation et l'évolution des adduits nitron-OOH pourraient être suivies en faisant varier la concentration de superoxyde dans le milieu.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- (1) Ingold, K. U.; Paul, T.; Young, M. J.; Doiron, L. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 12364-12365.

5. PARTIE EXPERIMENTALE

Certains des exploits les plus fantastiques ont été accomplis par des individus trop bêtes pour comprendre qu'ils étaient impossibles.

(Doug Larson, United Feature Syndicate)

5.1. INTRODUCTION

Les spectres de RMN ont été effectués sur les appareils BRUKER AC 100 (^1H , 100 MHz ; ^{31}P , 40,53 MHz ; ^{19}F , 94,22 MHz ; ^{13}C , 25,18 MHz) , BRUKER AC 200 (^1H , 200 MHz ; ^{13}C , 50,32 MHz) et BRUKER AM 400X (^1H , 400 MHz ; ^{31}P , 162,12 MHz ; ^{13}C , 100,61 MHz). Les RMN ^{13}C et ^{31}P sont réalisées avec découplage au ^1H .

Les déplacements chimiques sont donnés en ppm, par rapport au tétraméthylsilane (référence interne) pour le proton et le carbone et par rapport à H_3PO_4 à 85 % (référence externe) pour le phosphore. Les constantes de couplage sont en Hz.

Les spectres Infra-Rouge ont été effectués sur un appareil à transformée de Fourier Mattson 1000.

Les points de fusion ont été mesurés sur un appareil Büchi B510 à bain d'huile.

Les mesures d'analyse élémentaire ont été effectuées par le service commun de la microanalyse de l'Université de Droit, d'Economie et des Sciences d'Aix-Marseille III, à la faculté des Sciences et Techniques de Saint-Jérôme.

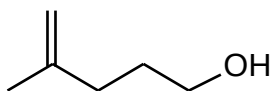
Les spectres de masse et HRMS ont été réalisés par le service de Spectrométrie de Masse Haute Résolution du Centre Régional des Mesures Physiques de l'Ouest (Université de Rennes I) sur un spectromètre VARIAN MAT 311 avec couplage CPG. Les résultats sont donnés en gramme.

Le suivi des réactions par chromatographie sur couche mince ainsi que les purifications sur gel de silice ont été réalisés avec de la silice "Silicagel 60, 230-400 mesh". Les révélateurs utilisés sont l'éclairage UV et l'acide phosphomolybdique en solution dans l'éthanol.

5.2. SYNTHESE DU 2- (DIETHOXYPHOSPHORYLMETHYL)-2- METHYL-3,4-DIHYDRO-2H-PYRROLE-1- OXYDE (ESP) 3

5.2.1. Via la réaction d'Arbuzov (Voie n°1)

5.2.1.1. Synthèse du 4-méthylpent-4-én-1-ol ²⁴¹



Dans un tricol de 500 ml, on introduit le bromure de méthyltriphényl phosphonium (41,1 g; 0,115 mol). On purge à l'azote, puis on ajoute 250 ml de THF, distillé au préalable sur le radical anion de la benzophénone. On additionne en 10 mn 50 ml de n-butyllithium 2,5 M en solution dans l'hexane (0,125 mol). L'addition est exothermique. On ajoute ensuite 50 ml de THF, puis la 5-hydropent-2-one (9,7 g; 0,095 mol), distillé avant usage, est additionnée en 3 mn à température ambiante. On laisse sous agitation pendant 4 heures et on évapore le solvant sous pression réduite. On reprend ensuite avec 200 ml d'eau et on extrait la phase aqueuse par 4 fois 100 ml d'éther diéthylique. Après séchage sur Na₂SO₄, on filtre sur fritté et on évapore le solvant sous pression réduite. Le produit brut contient de l'oxyde de triphénylphosphine. On distille au four à boules (60 °C, 2666 Pa) pour obtenir 5,0 g (rendement 52 %) d'un liquide incolore. Les données analytiques sont conformes à celles de la littérature.

RMN

¹H (200 MHz; CDCl₃) : δ 1,6-2,2 (m, 4H, CH₂-CH₂); 1,72 (s, 3H, CH₃-C=); 2,3 (s, 1H, OH); 3,65 (t, 2H, J = 7,0, CH₂-OH); 4,74 (s, 2H, CH₂=) ppm.

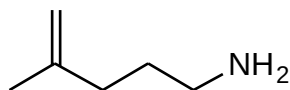
¹³C (50 MHz; CDCl₃) : δ 22,4 (CH₃-C=); 26,2 (CH₂-C=); 38,3 (CH₂-CH₂-OH); 62,6 (CH₂-OH); 110,2 (CH₂=); 117,7 (-C=) ppm.

IR (sans solvant) : 3374 (ν_{OH}); 3074 (ν_{CHsp²}); 2940 (ν_{CHsp³}); 2880; 1652 (ν_{C=C}); 1445 (δ_{CHsp²}); 1376 (δ_{CHsp³}); 1066 (δ_{OH 1}); 887 (alcène gem disubstitué); 745 cm⁻¹.

b.p. : 65-68 °C / 2666 Pa.

R_f : 0,40 (dichlorométhane / éthanol 95 / 5).

5.2.1.2. Synthèse de la 4-méthylpent-4-én-1-amine 23²



Dans un tricol de 500 ml, on place le phthalimide (6,0 g; 0,041 mol) et la triphénylphosphine (10,6 g; 0,040 mol). Le montage est purgé à l'azote. On ajoute 200 ml de THF fraîchement distillé sur le radical anion de la benzophénone. Le 4-méthylpent-4-én-1-ol **24** (4,2 g; 0,042 mol) et l'azocarboxylate de diéthyle (7,0 g; 0,040 mol) sont ajoutés goutte à goutte, simultanément en 4 mn, en refroidissant à l'aide d'un mélange eau / glace / sel. On laisse pendant 3 jours sous agitation magnétique et à l'abri de la lumière. On évapore le THF sous pression réduite et l'huile obtenue est dissoute dans 200 ml de méthanol. On ajoute l'hydrazine (3,9 ml; 0,080 mol) de façon rapide. On porte à reflux pendant 12 heures, puis on ramène le mélange à température ambiante. On ajoute en 4 mn 6 ml d'acide chlorhydrique concentré et on chauffe à reflux pendant 8 heures. On refroidit, et on évapore le solvant à l'évaporateur rotatif. Le solide est lavé avec une solution d'acide (200 ml H₂O pour 8 ml HCl 37 %) par portion de 50 ml. On filtre sur büchner et les cristaux sont rincés avec du chloroforme. Les phases aqueuses sont lavées avec du chloroforme (3 fois 30 ml) et avec de l'éther diéthylique (1 fois 30 ml), puis elles sont refroidies à 0 °C, et basifiées par NaOH et Na₂CO₃. Les deux phases résultantes sont extraites par de l'éther diéthylique (5 fois 40 ml). Les phases organiques sont lavées par une solution saturée de NaCl (1 fois 30 ml) et séchées sur Na₂SO₄ anhydre. On filtre et on évapore à l'évaporateur rotatif. On obtient une huile brune, qui est distillée au four à boules (40 °C, 2666 Pa). On obtient un liquide incolore, 1,5 g (rendement 38 %). Les données analytiques sont conformes à celles de la littérature.

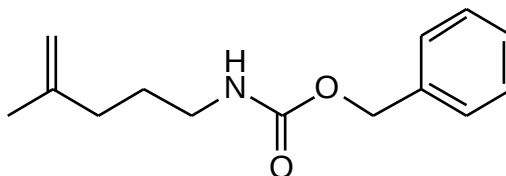
RMN

¹H (100 MHz; CDCl₃) : δ 1,63 (m, 2H, J = 7,1, CH₂-CH₂-CH₂); 1,75 (s, 3H, CH₃-C=); 2,08 (t, 2H, J = 8,0, CH₂-C=); 2,69 (t, 2H, J = 7,2, CH₂-NH₂); 4,70 (s, 2H, CH₂=) ppm.

IR (sans solvant) : 3380 (ν_{NH 1}); 3300 (ν_{NH 1}); 3074 (ν_{CHsp²}); 2934 (ν_{CHsp³}); 2857 (ν_{CHsp³}); 1650 (ν_{C=C}); 1447 (δ_{CHsp²}); 1375 (δ_{CHsp³}); 888 (alcène gem disubstitué) cm⁻¹.

R_f : 0,60 (dichlorométhane / éthanol 95 / 5).

5.2.1.3. Synthèse du N-(4-méthylpent-4-ényl) carbamate de benzyle **22**



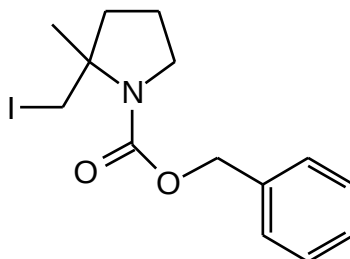
Dans un bicol de 100 ml, on place la 4-méthylpent-4-én-1-amine **23** (1,9 g; 19,6 mmol) et la triéthylamine (6,0 g; 59,5 mmol) dans 30 ml de THF anhydre. On ajoute le chloroformate de benzyle fraîchement distillé (4,6 g; 26,9 mmol). La réaction est exothermique. On laisse sous agitation magnétique pendant 19 heures, puis on évapore le THF et le produit pâteux ainsi obtenu est dissous dans 30 ml d'éther. On lave successivement avec de l'eau (2 fois 25 ml), une solution acide pH 1 (2 fois 25 ml), une solution basique pH 13 (2 fois 10 ml) et enfin 10 ml d'eau. On sèche sur Na₂SO₄. On filtre et on évapore le solvant à l'évaporateur rotatif. Le chlorure de benzyle résiduel est éliminé par évaporation à la pompe (0,5 Pa, 3 heures, température ambiante). On obtient alors 4,0 g (rendement 87 %) de **22**.

RMN

¹H (100 MHz; CDCl₃) : δ 1,60 (m, 2H, J = 6,2, CH₂-CH₂-CH₂); 1,70 (s, 3H, CH₃-C=); 2,01 (t, 2H, J = 8,1, CH₂-C=); 3,18 (q, 2H, J = 6,1, CH₂-NH-C=O); 4,70 (s, 2H, CH₂=); 5,09 (s, 2H, CH₂-Ph); 7,35 (s, 5H, C₆H₅-) ppm.

IR (sans solvant) : 3419; 3330 (ν_{NH} Amide); 3068 (ν_{CHsp²}); 3032 (ν_{CHsp²}); 2937 (ν_{CHsp³}); 1702 (ν_{C=O}); 1648 (ν_{C=C}); 1530 (δ_{NH}); 1455; 1257 (ν_{C-O-C}); 1135; 1040; 889 (alcène gem disubstitué); 735 (benzène monosubstitué); 698 (benzène monosubstitué) cm⁻¹.

5.2.1.4. Cyclisation du *N*-(4-méthylpent-4-ényl) carbamate de benzyle, obtention du *N*-(2-iodométhyl-2-méthyl tétraméthylène)carbamate de benzyle 21³



Dans un bicol de 100 ml, on introduit le carbamate **22** (1,1 g; 4,5 mmol) et NaHCO₃ (0,6 g; 7,0 mmol) dans un mélange Et₂O / H₂O (23 ml / 10 ml). On protège de la lumière et on laisse sous agitation pendant 48 heures. L'excès d'iode est enlevé par un lavage avec une solution aqueuse de Na₂SO₃. On sépare l'éther, et la phase aqueuse est extraite par de l'acétate d'éthyle (3 fois 30 ml). Les phases organiques sont réunies et lavées par une solution saturée en NaCl et NaHCO₃ (2 fois 10 ml). On sèche sur Na₂SO₄ anhydre puis on filtre et le solvant est évaporé sous pression réduite. On obtient 1,2 g (rendement 70 %) de produit brut. Pour caractérisation, le produit est purifié par chromatographie préparative sur plaque (éluant éther de pétrole / acétone 7 / 3).

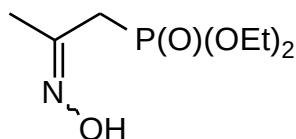
RMN

¹H (200 MHz; CDCl₃) : δ 1,56 (s, 3H, CH₃-C-N-); 1,80 (m, 4H, C-CH₂-CH₂-CH₂-N); 3,45 (m, 2H, CH₂-CH₂-N); 3,55 (d, 1H, J = 9,8, ICH_(a)H_(x)-C); 4,04 (d, 1H, J = 9,8, ICH_(a)H_(x)-C); 5,06 (d, 1H, J = 12,0, O=C-CH_(a)H_(b)-Ph); 5,15 (d, 1H, J = 12,0, O=C-CH_(a)H_(b)-Ph); 7,36 (m, 5H, C₆H₅-) ppm.

R_f : 0,39 (éther de pétrole / acétone 7 / 3).

5.2.2. Via la réduction d'un groupement nitro (Voie n°3)

5.2.2.1. Synthèse du (2-hydroxyiminopropan-1-yl) phosphonate de diéthyle 63⁴



Dans un bicol de 100 ml, on met le chlorhydrate d'hydroxylamine (2,0 g; 28,2 mmol) avec la pyridine (2,2 g; 28,3 mmol) dans 25 ml de méthanol. On ajoute le 2-oxopropylphosphonate de diéthyle **32** (5,2 g; 26,9 mmol) en 1 heure. On laisse sous agitation pendant 24 heures. Le méthanol est évaporé sous pression réduite pour obtenir un liquide visqueux jaune qu'on reprend par 12 ml d'acide chlorhydrique 1 M. La phase aqueuse est extraite par 4 fois 20 ml de chloroforme et les phases organiques sont lavées par 25 ml d'eau. On sèche sur Na₂SO₄ anhydre puis on filtre et le solvant est évaporé sous pression réduite. On obtient 4,5 g (rendement 80 %) d'huile jaune.

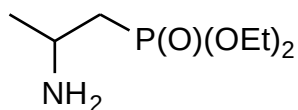
RMN

¹H (200 MHz; CDCl₃) : δ 1,35 (t, 6H, J = 2,9, CH₃-CH₂-O-P); 2,04 (s, 3H, CH₃-C); 2,82 (d, 1H, J_{P-H} = 22,1, O-P-CH_(a)H_(b)-C); 3,09 (d, 1H, J_{P-H} = 23,1, O-P-CH_(a)H_(b)-C); 4,15 (q, 4H, J = 7,3, CH₃-CH₂-O-P); 7,34 (s, 1H, N-OH) ppm.

³¹P (40 MHz; CDCl₃) : δ 25,5 (E); 24,2 (Z) ppm.

R_f : 0,17 (dichlorométhane / éthanol 20 / 1).

5.2.2.2. Synthèse du 2-aminopropylphosphonate de diéthyle **31**⁵



Une solution de 2-oxopropylphosphonate de diéthyle **32** (1,0 g; 5,2 mmol), d'acétate d'ammonium (4,0 g; 5,15 mmol) et de cyanoborohydrure de sodium (0,3 g; 5,2 mmol) dans 15 ml de méthanol est agitée à température ambiante pendant 72 heures, puis on ajoute de l'acide chlorhydrique concentré jusqu'à pH 2. Le méthanol est évaporé sous pression réduite. Le résidu est repris dans 10 ml d'eau et lavé par 3 fois 10 ml d'éther diéthylique. La solution aqueuse est amenée à pH 12 avec de la potasse, saturée par du NaCl et extraite par 3 fois 12 ml de dichlorométhane. La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium. Après filtration et évaporation sous pression réduite du solvant on obtient 0,9 g (rendement 86 %) de **31**.

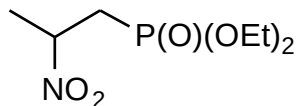
RMN

¹H (100 MHz; CDCl₃) : δ 1,20 (d, 3H, J = 7,1, CH₃-CH-NH₂); 1,33 (t, 6H, J = 7,0, CH₃-CH₂-O); 1,6-2,2 (m, 2H, CH₂-P); 2,55 (s, 2H, -NH₂); 3,30 (m, 1H, CH₃-CH-NH₂) ; 4,10 (qt, 4H, J = 7,0, J = 12, CH₃-CH₂-O) ppm.

¹³C (25 MHz; CDCl₃) : δ 15,7 (CH₃-CH₂-O-P-O-CH₂-CH₃); 15,9 (CH₃-CH₂-O-P-O-CH₂-CH₃); 24,6 (d, J_{C-P} = 16,2, CH₃-CH(NH₂)-CH₂-P); 35,2 (d, J = 137,8, CH₂-P); 42,0 (d, J = 4,3, CH-NH₂); 61,5 (d, J = 3,1, CH₃-CH₂-O) ppm.

³¹P (40 MHz; CDCl₃) : δ 28,7 ppm.

5.2.2.3. Synthèse du 2-nitropropylphosphonate de diéthyle 29⁵



Une solution de **31** (1,0 g; 5,2 mmol) dans 2,5 ml de 1,2-dichloroéthane est ajoutée goutte à goutte dans une solution à reflux d'acide *mé*ta-chloroperbenzoïque 75 % (4,7 g; 27,5 mmol) dans 15 ml de 1,2-dichloroéthane. La solution est agitée à reflux pendant 16 heures, refroidie, lavée avec une solution aqueuse saturée en Na₂CO₃ (3 fois 10 ml) et séchée sur MgSO₄. Après filtration, le solvant est évaporé sous pression réduite pour obtenir 0,8 g (rendement 69 %) de **29**.

RMN

¹H (100 MHz; CDCl₃) : δ 1,34 (t, 6H, J = 7,0, CH₃-CH₂-O); 1,68 (d, 3H, J = 6,7, CH₃-CH-NO₂); 1,7-2,7 (m, 2H, CH₂-P); 4,12 (qt, 4H, J = 7,0, CH₃-CH₂-O); 4,85 (m, 1H, CH₃-CH-NO₂) ppm.

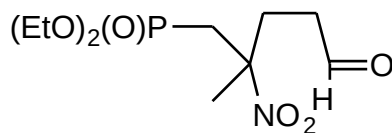
¹³C (50 MHz; CDCl₃) : δ 16,2 (d, J = 5,5, CH₃-CH₂-O); 16,3 (d, J = 5,3, CH₃-CH₂-O); 20,6 (d, J = 7,3, CH₃-CH-NO₂); 31,1 (d, J = 143,5, CH₂-P); 62,2 (d, J = 2,7, CH₃-CH₂-O); 78,2 (CH-NO₂) ppm.

³¹P (40 MHz; CDCl₃) : δ 23,9 ppm.

Analyse élémentaire pour C₇H₁₆NO₅P

	C	H	N
Calc. (%)	37,33	7,16	6,22
Exp. (%)	37,42	7,08	6,20

5.2.2.4. Synthèse du (4-formyl-2-méthyl-2-nitrobutyl)phosphonate de diéthyle **28**



Une solution d'acroléine **30** (0,3 g; 5,0 mmol) dans 2,5 ml d'acétonitrile est ajoutée goutte à goutte à **29** (1,0 g; 4,4 mmol) à 0 °C. Le milieu réactionnel est refroidi à -5 °C et 18 µl de Triton B (hydroxyde de *N*-benzyltriméthylammonium) 40 % sont ajoutés goutte à goutte en 40 mn. Le milieu est agité à 0 °C pendant 2 heures puis à 10 °C pendant 20 heures, refroidi à 0 °C et de l'acroléine (0,1 g; 2,4 mmol) est ajoutée goutte à goutte. La solution est agitée à 0 °C pendant 2 heures puis à 10 °C pendant 20 heures. Finalement, le milieu réactionnel est refroidi à 0 °C, on ajoute de l'eau (2 ml) et une solution d'acide chlorhydrique à 4 % jusqu'à pH 3. La phase organique est séchée sur MgSO₄. Après évaporation sous pression réduite du solvant on obtient 0,8 g (rendement 64 %) de **28** brut, qui est suffisamment pur pour l'étape suivante.

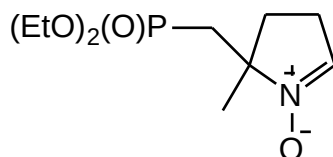
RMN

¹H (200 MHz; CDCl₃) : δ 1,31 (t, 3H, J = 7,2, CH₃-CH₂-O); 1,32 (t, 3H, J = 7,2, CH₃-CH₂-O); 1,76 (s, 3H, CH₃-CH-NO₂); 2,2-2,8 (m, 6H, P-CH₂-C-CH₂-CH₂-C=O); 4,10 (qt, 4H, J = 7,2, CH₃-CH₂-O); 9,74 (s, 1H, CHO) ppm.

¹³C (50 MHz; CDCl₃) : δ 16,2 (d, J = 7,1, CH₃-CH₂-O); 23,9 (d, J = 3,3, CH₃-C-CH₂-P); 32,0 (d, J = 8,4, CH₂-C-CH₂-P); 34,8 (d, J = 142,4, CH₂-P); 38,1 (CH₂-CHO); 62,2 (d, J = 6,9, CH₃-CH₂-O); 87,7 (C-NO₂) ppm.

³¹P (40 MHz; CDCl₃) : δ 22,2 ppm.

5.2.2.5. Synthèse du 2-(diéthoxyphosphorylméthyl)-2-méthyl-3,4-dihydro-2H-pyrrole-1-oxyde (ESP) ³⁶



A une solution de **28** (1,0 g; 3,6 mmol) dans 8 ml d'éthanol 95 % sont ajoutés lentement, sous agitation mécanique et à une température de 2 °C, du zinc en poudre (0,6 g; 9,2 mmol), goutte à goutte une solution d'acide acétique (0,9 g; 14,2 mmol) dans 3 ml d'éthanol en maintenant la température voisine de 8 °C. La solution est agitée pendant 15 heures à 2 °C. Le brut est filtré pour enlever l'acétate de zinc et le gâteau est lavé avec de l'éthanol. L'éthanol est évaporé sous pression réduite, et le filtrat brut est dissous dans 50 ml d'eau. Les impuretés sont enlevées en continu dans un appareil Jalade avec de l'éther diéthylique, la nitrone **3** est extraite de l'eau par le même procédé avec le dichlorométhane comme solvant. La phase organique est séchée sur Na₂SO₄. Après évaporation du solvant on obtient 300 mg de nitrone **3** (rendement 30 %).

RMN

¹H (200 MHz; CDCl₃) : δ 1,34 (t, 6H, J = 7,2, CH₃-CH₂-O); 1,57 (s, 3H, CH₃-C-CH₂P); 1,7-2,8 (m, 6H, P-CH₂-C-CH₂-CH₂-CH=N); 4,12 (qt, 4H, J = 7,2, CH₃-CH₂-O); 6,90 (s, 1H, =CH) ppm.

¹³C (50 MHz; CDCl₃) : δ 16,4 (d, J = 6,1, CH₃-CH₂-O); 24,7 (d, J = 4,7, CH₃-C*-CH₂-P); 24,9 (CH₂); 31,8 (CH₂); 34,1 (d, J = 142,1, CH₂-P); 61,9 (d, J = 5,5, CH₃-CH₂-O); 62,0 (d, J = 5,0, CH₃-CH₂-O); 74,3 (CH₃-C*-CH₂-P); 133,4 (=CH) ppm.

³¹P (40 MHz; CDCl₃) : δ 24,9 ppm.

HRMS pour C₁₀H₂₀NO₄P

Masse théorique : 249,1130

Masse trouvée : 249,1137.

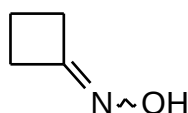
Spectre de masse pour C₁₀H₂₀NO₄P

m / z : 232 (13,40 %); 204 (3,50 %); 138 (HP(O)(OEt)₂, 1,38 %); 125 (13,13 %); 94 (100 %); 80 (7,01 %); 28 (9,70 %).

5.3. SYNTHÈSE DU 2,2-BISDIETHOXYPHOSPHORYL-3,4-DIHYDRO-2H-PYRROLE-1-OXYDE (DPBO) 4

5.3.1. Via le réarrangement de Beckmann (Voie n°1)

5.3.1.1. Synthèse de la cyclobutanone-oxime 71^{7,8}



Une solution aqueuse (10 ml d'eau) de carbonate de sodium (4,8 g; 45,3 mmol) est ajoutée sous agitation à une solution aqueuse (11 ml d'eau) de chlorhydrate d'hydroxylamine (6,2 g; 89,5 mmol) et de cyclobutanone **72** (5,2 g; 73,5 mmol), la température étant maintenue inférieure à 45 °C. Le milieu réactionnel est agité pendant 1 heure. La phase aqueuse est extraite par de l'éther diéthylique (4 fois 25 ml) et le solvant est évaporé jusqu'à obtenir une poudre blanche, que l'on redissout dans de l'acétone (10 ml). Après séchage sur Na₂SO₄, filtration et reconcentration, on obtient 4,7 g (rendement 75 %) de cristaux blancs de **71**.

RMN

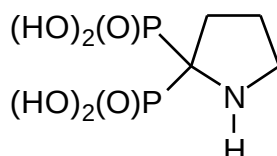
¹H (400 MHz; CDCl₃) : δ 1,97 (q, 2H, J = 8,1, N=C-CH₂-CH₂-CH₂-); 2,87 (dt, 2H, J₁ = 8,2, J₂ = 1,0, N=C-CH₂-CH₂-CH₂-); 2,92 (dt, 2H, J₁ = 8,3, J₂ = 1,0, N=C-CH₂-CH₂-CH₂-); 8,88 (s, 1H, -OH) ppm.

¹³C (100 MHz; CDCl₃) : δ 14,5 (N=C-CH₂-CH₂-CH₂-); 30,6 (N=C-CH₂-CH₂-CH₂-); 31,5 (N=C-CH₂-CH₂-CH₂-); 159,9 (N=C-CH₂-CH₂-CH₂-) ppm.

m.p. : 87 °C (litt. : 84-85 °C)⁷.

5.3.2. Via l'acide (pyrrolidine-2,2-diyl)bisphosphonique 73 (Voie n°2)

5.3.2.1. Synthèse de l'acide (pyrrolidine-2,2-diyl)bisphosphonique 73⁹



La pyrrolidin-2-one **74** (17,4 g; 0,204 mol) et l'acide phosphoreux (32,9 g; 0,401 mol) sont chauffés, sous azote, à 80 °C jusqu'à dissolution de l'acide. L'oxychlorure de phosphore (39 ml; 0,425 mol) est additionné précautionneusement en 1 heure. La solution est agitée pendant 8 heures à 100 °C pour donner un solide jaune. 1 litre d'eau est additionné et le milieu réactionnel est chauffé pendant 1 heure à 100 °C, puis filtré sur büchner. La cristallisation du filtrat conduit à 8,0 g (rendement 18 %) du composé **73**.

RMN

¹H (200 MHz; D₂O / NaOD) : δ 1,85 (q, 2H, J = 7,1, HN-CH₂-CH₂-CH₂-C); 2,17 (h, 2H, J_{Hc-Hb} = 7,1, J_{P-Hc} = 14,5, HN-CH₂-CH₂-CH₂-C); 3,21 (t, 2H, J = 7,0, HN-CH₂-CH₂-CH₂-C) ppm.

¹³C (100 MHz; D₂O / NaOD) : δ 25,4 (HN-CH₂-CH₂-CH₂-C); 31,3 (HN-CH₂-CH₂-CH₂-C); 48,6 (HN-CH₂-CH₂-CH₂-C); 65,8 (t, J_{C-P} = 118, HN-CH₂-CH₂-CH₂-C) ppm.

³¹P (40 MHz; D₂O / NaOD) : δ 15,9 ppm.

IR (KBr) : 2979 (ν_{CHsp³}); 2778 (ν_{NH⁺}); 2707 (P-OH); 2462 (P-OH); 1614 (δ_{NH⁺}); 1435 (δ_{CHsp³}); 1241 (P=O); 1119; 986 (PO-H) cm⁻¹.

Analyse élémentaire pour C₄H₁₁NO₆P₂

	C	H	N	P
Calc. (%)	20,78	4,80	6,06	26,82
Exp. (%)	20,65	4,90	5,64	26,37

m.p. : 281 °C (déc.).

RX

Formule brute	C ₄ H ₁₁ NO ₆ P ₂
Masse moléculaire (g.mol ⁻¹)	231,08
Système cristallin	triclinique

Groupe spatial (ou de symétrie)	P ₁
Paramètres de la maille :	
a (Å)	6,761(1)
b (Å)	7,798(1)
c (Å)	8,514(1)
α (°)	78,764(1)
β (°)	85,570(1)
γ (°)	71,800(1)
Volume (Å ³)	418,2(2)
Z (nombre molécule par maille)	2
D calculé (mg.m ⁻³)	1,25
l (Å)	0,71073
Dimension du cristal (mm)	0,2 * 0,2 * 0,2
q max (°)	22,60
Nombre de réflexions :	
mesurés	1137
uniques	1137
utilisés pour l'affinement	1001
Nombre de variables	118
R	0,049
Rw	0,077

Coordonnées atomiques :

P1	0,1968(1)	0,1603(1)	0,51490(9)	0,0282(4)	1,00 Uij
P2	0,2652(1)	-0,05598(9)	0,85353(9)	0,0281(4)	1,00 Uij
O3	0,3046(3)	0,2875(3)	0,4099(2)	0,035(1)	1,00 Uij
O4	0,2608(3)	-0,0282(3)	1,0251(2)	0,034(1)	1,00 Uij
O5	0,2650(3)	-0,0323(3)	0,4857(2)	0,032(1)	1,00 Uij
O6	-0,0433(3)	0,2494(3)	0,4999(2)	0,035(1)	1,00 Uij
O7	0,0661(3)	-0,0969(3)	0,8151(2)	0,035(1)	1,00 Uij
O8	0,4588(3)	-0,1998(3)	0,8117(2)	0,035(1)	1,00 Uij
N9	0,4604(3)	0,1979(3)	0,7316(3)	0,033(1)	1,00 Uij
C10	0,2507(4)	0,1647(4)	0,7233(3)	0,028(1)	1,00 Uij
C11	0,0896(5)	0,3304(4)	0,7871(3)	0,034(2)	1,00 Uij
C12	0,2222(6)	0,4253(4)	0,8567(4)	0,046(2)	1,00 Uij
C13	0,4110(5)	0,3981(4)	0,7478(4)	0,045(2)	1,00 Uij
H11A	0,00807	0,29054	0,86945	0,05000	1,00 Uiso
H11B	0,01620	0,41557	0,70214	0,05000	1,00 Uiso
H12A	0,27446	0,36824	0,96428	0,05000	1,00 Uiso
H12B	0,16725	0,55421	0,85264	0,05000	1,00 Uiso
H13A	0,38614	0,48128	0,64782	0,05000	1,00 Uiso
H13B	0,53112	0,42182	0,79623	0,05000	1,00 Uiso

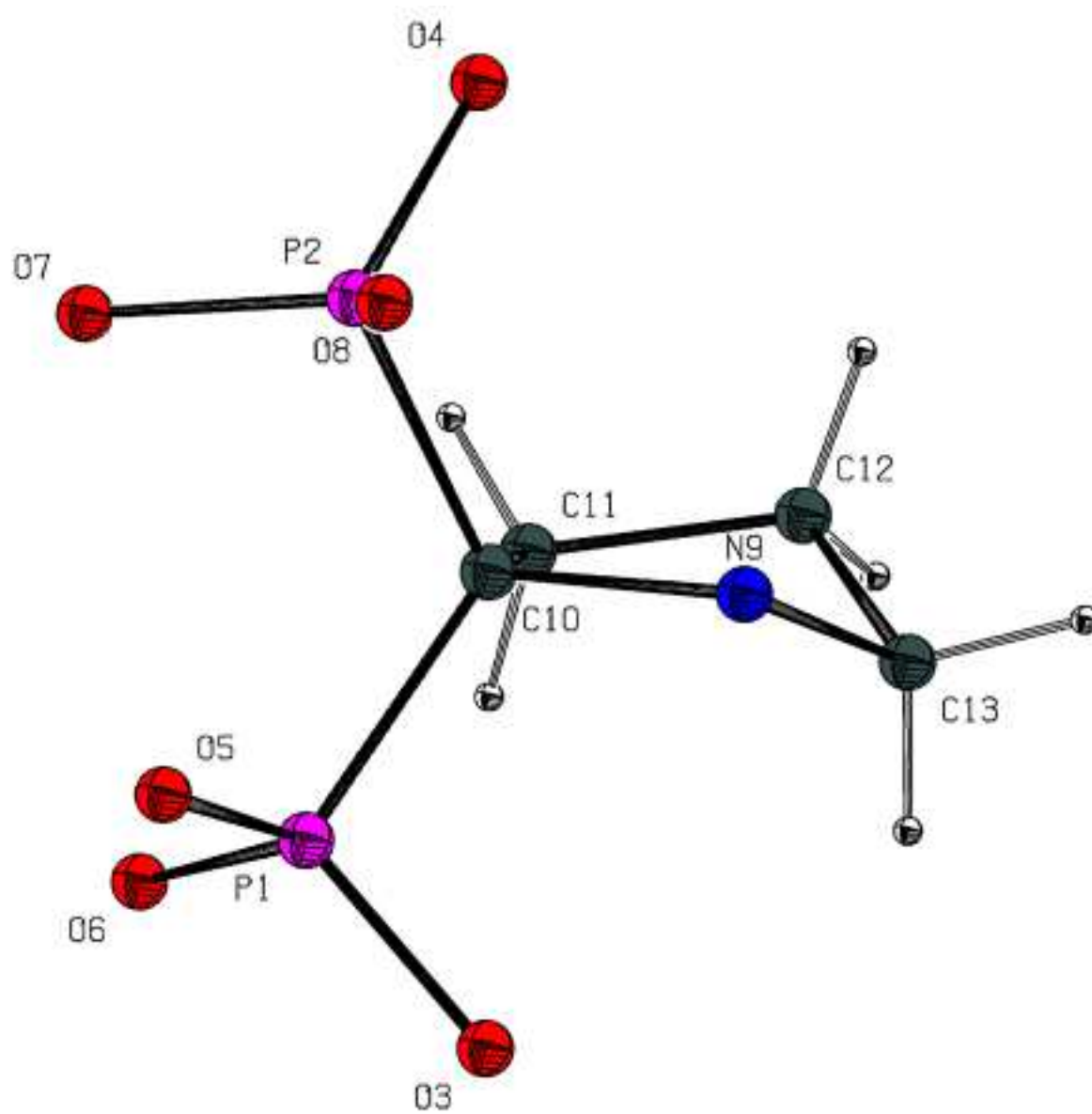


Figure 5-1 : Dessin ORTEP de 73

5.3.3. Via la synthèse en une étape (Voie n°3)

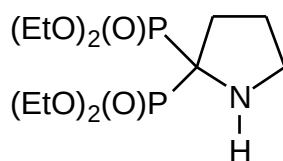
5.3.3.1. Synthèse des (pyrrolidine-2,2-diyl)bisphosphonates de tétraalkyle 70, 90, 91 et 93

Procédure générale

L'oxychlorure de phosphore (40 ml; 0,44 mol) est additionné en 1 h 15 à -5 °C à une solution de pyrrolidin-2-one (18,5 g; 0,22 mol) et de phosphite de trialkyle (0,42 mol). Le milieu réactionnel est agité pendant 5 heures à température ambiante puis versé sur un mélange de glace (300 g) et d'ammoniaque 32 % (300 ml). La phase aqueuse est extraite par du dichlorométhane (4 fois 100 ml) et celui-ci est évaporé sous pression réduite pour obtenir une huile jaune. L'huile est dissoute dans 100 ml de dichlorométhane, on rajoute 200 ml d'eau puis de l'acide chlorhydrique 37 % jusqu'à pH 1. La phase aqueuse est lavée avec du dichlorométhane (4 fois 50 ml). On ajoute de la soude et du carbonate de sodium jusqu'à pH 10 et la phase aqueuse est extraite avec du dichlorométhane (4 fois 50 ml). La phase organique est séchée sur sulfate de sodium, filtrée puis évaporée sous pression réduite pour obtenir le gem-bisphosphonate.

Caractérisations

(Pyrrolidine-2,2-diyl)bisphosphonate de tétraéthyle 70 : (33,4 g, rendement 47 %)



RMN

^1H (400 MHz; C_6D_6) : δ 1,10 (t, 6H, $J = 7,1$, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$); 1,11 (t, 6H, $J = 7,1$, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$); 1,69 (q, 2H, $J = 6,8$, $J_{\text{H-H}} = 7,2$, $\text{HN}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}$); 2,42 (n, 2H, $J_{\text{Ha-Hb}} = 7,2$, $J_{\text{P-H}} = 17,7$, $\text{HN}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}$); 2,88 (t, 2H, $J = 6,5$, $\text{HN}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}$); 4,17 (m, 8H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$) ppm.

^{13}C (100 MHz; C_6D_6) : δ 16,5 (t, $J_{\text{C-P}} = 7,2$, $\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{O}-\text{P}$); 16,6 (t, $J_{\text{C-P}} = 5,5$, $\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{O}-\text{P}$); 26,5 (t, $J_{\text{C-P}} = 3,1$, $\text{HN}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}$); 31,2 (t, $J_{\text{C-P}} = 3,0$, $\text{HN}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}$); 47,7 (t, $J_{\text{C-P}} = 4,0$, $\text{HN}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}$); 62,7 (t, $J_{\text{C-P}} = 3,6$, $\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{O}-\text{P}$); 62,8 (t, $J_{\text{C-P}} = 151,8$, $\text{HN}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}$); 63,4 (t, $J_{\text{C-P}} = 5,3$, $\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{O}-\text{P}$) ppm.

^{31}P (40 MHz; CDCl_3) : δ 22,5 ppm.

IR (sans solvant): 3480 (NH); 2982; 2932; 2909; 2869; 1456; 1392; 1243 (P=O); 1164 (P-OC₂H₅); 1044; 968; 794; 732; 645; 580; 536 cm⁻¹.

b.p. : 140 °C / 8 Pa.

pKa : 3,5

R_f : 0,39 (acétone); 0,43 (dichlorométhane / éthanol 19 / 1).

Picrate dérivé de 70 :

RMN

^1H (100 MHz; CDCl_3) : δ 1,33 (t, 6H, J = 7,1, -O-CH₂-CH₃); 1,36 (t, 6H, J = 7,1, -O-CH₂-CH₃); 2,2-2,7 (m, 4H, HN-CH₂-CH₂-CH₂-); 3,64 (t, 2H, J = 6,9, HN-CH₂-CH₂-CH₂-); 4,24 (m, 8H, -O-CH₂-CH₃); 7,99 (s, 2H, +NH₂); 8,86 (s, 2H, phényle) ppm.

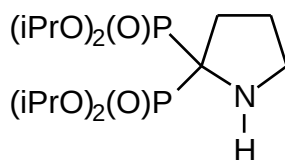
^{31}P (40 MHz; CDCl_3) : δ 16,2 ppm.

Analyse élémentaire pour C₁₈H₃₀N₄O₁₃P₂

	C	H	N
Calc. (%)	37,75	5,28	9,79
Exp. (%)	37,24	5,34	9,28

m.p. : 128-130 °C.

(Pyrrolidine-2,2-diyl)bisphosphonate de tétraisopropyle 90 : (37,2 g, rendement 45 %)



RMN

^1H (400 MHz; C₆D₆) : δ 1,22 (d, 6H, J_{H-H} = 6,1, -O-CH-(CH₃)₂); 1,27 (d, 6H, J_{H-H} = 6,4, -O-CH-(CH₃)₂); 1,28 (d, 6H, J_{H-H} = 6,3, -O-CH-(CH₃)₂); 1,31 (d, 6H, J_{H-H} = 6,2, -O-CH-(CH₃)₂); 1,75 (q, 2H, J = 6,8, J_{H-H} = 6,9, HN-CH₂-CH₂-CH₂-C); 2,37 (tt, 2H, J_{H-H} = 7,3, J_{P-H} = 17,7, HN-CH₂-CH₂-CH₂-C); 2,95 (t, 2H, J = 6,5, HN-CH₂-CH₂-CH₂-C); 4,87 (m, 1H, -O-CH-(CH₃)₂); 5,00 (m, 1H, -O-CH-(CH₃)₂) ppm.

^{13}C (100 MHz; C₆D₆) : δ 23,8 (t, $^3\text{J}_{\text{C-P}}$ = 6,7, -O-CH-(CH₃)₂); 24,0 (t, $^3\text{J}_{\text{C-P}}$ = 6,4, -O-CH-(CH₃)₂); 24,4 (s, -O-CH-(CH₃)₂); 24,7 (s, -O-CH-(CH₃)₂); 26,4 (t, $^3\text{J}_{\text{C-P}}$ = 3,3, HN-CH₂-CH₂-CH₂-C); 31,0 (t, $^2\text{J}_{\text{C-P}}$ = 3,4, HN-CH₂-CH₂-CH₂-C); 47,7 (t, $^3\text{J}_{\text{C-P}}$ = 4,6, HN-CH₂-CH₂-CH₂-C); 63,1 (t, $^1\text{J}_{\text{C-P}}$ = 151,1, HN-CH₂-CH₂-CH₂-C); 70,8 (t, $^2\text{J}_{\text{C-P}}$ = 6,7, -O-CH-(CH₃)₂); 71,7 (t, $^2\text{J}_{\text{C-P}}$ = 6,2, -O-CH-(CH₃)₂) ppm.

^{31}P (40 MHz; CDCl_3) : δ 21,2 ppm.

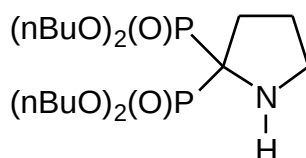
IR (sans solvant): 3471 (NH); 1246 (P=O); 989 (P-OCH(CH₃)₂) cm^{-1} .

Analyse élémentaire pour $\text{C}_{16}\text{H}_{35}\text{NO}_6\text{P}_2$

	C	H	N
Calc. (%)	48,12	8,83	3,51
Exp. (%)	48,21	8,80	3,51

m.p. : -27 °C.

(Pyrrolidine-2,2-diyl)bisphosphonate de tétran-butyle 91 : (23,2 g, rendement 47 %)



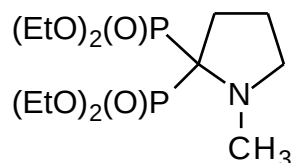
RMN

^1H (400 MHz; C_6D_6) : δ 0,82 (t, 6H, $J = 7,4$, -O-CH₂-CH₂-CH₂-CH₃); 0,83 (t, 6H, $J = 7,4$, -O-CH₂-CH₂-CH₂-CH₃); 1,32 (sext., 4H, $J = 7,3$, -O-CH₂-CH₂-CH₂-CH₃); 1,33 (sext., 4H, $J = 7,5$, -O-CH₂-CH₂-CH₂-CH₃); 1,56 (m, 8H, -O-CH₂-CH₂-CH₂-CH₃); 1,76 (q, 2H, $J = 6,9$, $J_{\text{H-H}} = 7,2$, HN-CH₂-CH₂-CH₂-C); 2,49 (n, 2H, $J_{\text{Ha-Hb}} = 7,3$, $J_{\text{P-H}} = 17,8$, HN-CH₂-CH₂(b)-CH₂(a)-C); 2,97 (t, 2H, $J = 6,5$, HN-CH₂-CH₂-CH₂-C); 4,22 (m, 4H, -O-CH₂-CH₂-CH₂-CH₃); 4,27 (m, 4H, -O-CH₂-CH₂-CH₂-CH₃); 5,30 (s, 1H, HN-) ppm.

^{13}C (100 MHz; C_6D_6) : δ 14,1 (CH₃-CH₂-CH₂-CH₂-O-P); 19,4 (CH₃-CH₂-CH₂-CH₂-O-P); 26,8 (t, $J_{\text{C-P}} = 3,2$, HN-CH₂-CH₂-CH₂-C); 31,5 (t, $J_{\text{C-P}} = 3,0$, HN-CH₂-CH₂-CH₂-C); 33,4 (t, $J_{\text{C-P}} = 2,7$, CH₃-CH₂-CH₂-CH₂-O-P); 33,5 (t, $J_{\text{C-P}} = 2,7$, CH₃-CH₂-CH₂-CH₂-O-P); 48,1 (t, $J_{\text{C-P}} = 4,3$, HN-CH₂-CH₂-CH₂-C); 63,2 (t, $J_{\text{C-P}} = 152,0$, HN-CH₂-CH₂-CH₂-C); 67,1 (t, $J_{\text{C-P}} = 3,5$, CH₃-CH₂-CH₂-CH₂-O-P); 67,8 (t, $J_{\text{C-P}} = 3,2$, CH₃-CH₂-CH₂-CH₂-O-P) ppm.

^{31}P (40 MHz; CDCl_3) : δ 22,7 ppm.

(*N*-méthyl-pyrrolidine-2,2-diyl)bisphosphonate de tétraéthyle 93 : (13,2 g, rendement 17 %)



Dans ce cas, on utilise la *N*-méthylpyrrolidin-2-one (21,5 g; 0,22 mol) au lieu de la pyrrolidin-2-one.

RMN

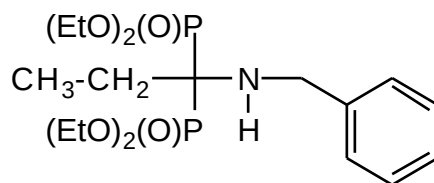
^1H (200 MHz; CDCl_3) : δ 1,34 (t, 12H, $J = 7,1$, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$); 1,84 (q, 2H, $J = 6,6$, $\text{HN}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}$); 2,43 (m, 2H, $\text{HN}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}$); 2,79 (t, 3H, $J = 1,7$, CH_3-N); 2,84 (t, 2H, $J = 6,6$, $\text{HN}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}$); 4,21 (m, 8H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$) ppm.

^{13}C (50 MHz; CDCl_3) : δ 16,1 (s, $\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{O}-\text{P}-$); 23,6 (s, $\text{HN}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}$); 32,2 (t, $J_{\text{C-P}} = 4,6$, $\text{HN}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}$); 37,3 (s, CH_3-N); 55,3 (t, $J_{\text{C-P}} = 4,7$, $\text{HN}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}$); 62,2 (t, $J_{\text{C-P}} = 4,6$, $\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{O}-\text{P}$); 64,2 (t, $J_{\text{C-P}} = 153,0$, $\text{HN}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}$) ppm.

^{31}P (40 MHz; CDCl_3) : δ 21,8 ppm.

R_f : 0,61 (dichlorométhane / éthanol 19 / 1).

(N-benzyl-1-aminopropan-1,1-diyl)bisphosphonate de tétraéthyle 96 : (50,5 g, rendement 57 %)



Dans ce cas, on utilise la *N*-benzylpropionamide (35,9 g; 0,22 mol) au lieu de la pyrrolidin-2-one.

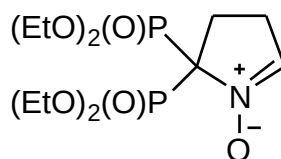
RMN

^1H (400 MHz; CDCl_3) : δ 1,12 (t, 3H, $J = 7,5$, $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-C-N}$); 1,31 (t, 6H, $J = 7,1$, $-\text{O-CH}_2\text{-CH}_3$); 1,32 (t, 6H, $J = 7,1$, $-\text{O-CH}_2\text{-CH}_3$); 2,13 (o, 2H, $J_{\text{H-H}} = 7,5$, $J_{\text{P-H}} = 15,0$, $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-C-N}$); 4,00 (s, 1H, C-NH); 4,11 (m, 2H, $\text{Ph-CH}_2\text{-N-}$); 4,21 (m, 8H, $-\text{O-CH}_2\text{-CH}_3$); 7,24 (m, 5H, aromatiques) ppm.

^{13}C (100 MHz; CDCl_3) : δ 8,5 (t, $J_{\text{C-P}} = 6,5$, $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-C-N}$); 16,5 ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-O-P-}$); 23,5 ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-C-N}$); 47,9 (t, $J_{\text{C-P}} = 6,5$, $\text{Ph-CH}_2\text{-N-}$); 62,8 (t, $J_{\text{C-P}} = 140,1$, $-\text{CH}_2\text{-C-N}$); 62,8 (t, $J_{\text{C-P}} = 3,1$, $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-O-P-}$); 63,1 (t, $J_{\text{C-P}} = 3,2$, $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-O-P-}$); 127,0 (aromatique para); 128,2 (aromatiques ortho); 128,3 (aromatiques méta); 140,5 (aromatique quaternaire) ppm.

^{31}P (40 MHz; CDCl_3) : δ 21,5 ppm.

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



Oxydation par le DMD

Synthèse du DMD 102¹⁰

Dans un ballon tricol (4 l) équipé d'une agitation mécanique, d'une grosse ampoule d'addition pour solide, et d'un tube en U, on introduit un mélange d'eau (254 ml) - acétone (192 ml) et du NaHCO_3 (25,0 g). Le milieu réactionnel est refroidi à l'aide d'un bain de glace à 5 °C. A l'extrémité du tube en U, on place un ballon bicol relié à une trompe à eau. Ce ballon est placé dans un Dewar : la température est maintenue à -78 °C (mélange air liquide - éthanol). A l'aide de l'ampoule d'addition, on ajoute dans le tricol, l'oxone ($2 \text{ KHSO}_5 \cdot \text{KHSO}_4 \cdot \text{K}_2\text{SO}_4$) (120 g) en cinq fractions, à trois minutes d'intervalle en

maintenant une très forte agitation. Trois minutes après la dernière addition, on se met sous vide modéré (10663 à 13329 Pa) et on enlève le bain de glace servant au refroidissement tout en maintenant une forte agitation. On obtient comme distillat une solution de diméthylldioxirane dans de l'acétone qui est séchée sur K_2CO_3 puis conservée au congélateur (-20 °C) sur tamis moléculaire 4 Å. La concentration en diméthylldioxirane est déterminée par l'analyse du spectre RMN 1H de l'oxydation du thioanisole (ou thiométhoxybenzène) en sulfoxyde correspondant. Le rendement est d'environ 5 %.

1H : 2,48 (s, CH_3-S-Ph); 2,73 (s, $CH_3-S(O)-Ph$); 3,06 (s, $CH_3-S(O)_2-Ph$) ppm.

Oxydation de **70**

Dans un monocol, on ajoute goutte à goutte en 20 mn une solution de diméthylldioxirane **102** (1,9 éq.) à une solution redroidie à -12 °C d'aminophosphonate **70** (1 éq.) dans de l'acétone (30 ml pour 7,0 mmol de **70**). Le solvant est évaporé sous pression réduite puis le résidu est repris dans 1 ml d'acétone, purifié par chromatographie préparative sur plaque 1 mm (éluant dichlorométhane / éthanol absolu 10 / 1 - extraction par du méthanol). Le rendement est d'environ 20 %.

Oxydation de Brik¹¹

Dans un bicol de 500 ml, on met l'aminophosphonate **70** (1,6 g; 4,6 mmol), de l'acétone (80 ml), du dichlorométhane (60 ml), l'hydrogénosulfate de tétrabutylammonium (81,4 mg; 0,24 mmol), du tampon Na_2HPO_4 0,1 M (60 ml) et 2 ml de solution 2 M de soude. On refroidit à 0 °C et on ajoute goutte à goutte en 1 heure une solution d'oxone (9,5 g; 15,5 mmol; 3,4 éq.) dans de l'eau (90 ml). On sépare la phase organique et la phase aqueuse est extraite par du dichlorométhane (2 fois 100 ml). Les phases organiques sont réunies, le solvant est évaporé sous pression réduite, on reprend par de l'acétone (1 ml). On purifie par chromatographie préparative sur plaque 1 mm (éluant dichlorométhane / éthanol absolu 10 / 1). Après extraction par du méthanol, filtration sur fritté 4 et évaporation du solvant on obtient 154 mg (rendement 11 %) de **4**.

Caractérisations

RMN

1H (400 MHz; C_6D_6) : δ 1,09 (t, 6H, $J = 7,1$, $-O-CH_2-\underline{CH_3}$); 1,11 (t, 6H, $J = 7,1$, $-O-CH_2-\underline{CH_3}$); 2,11 (m, 2H, $J_{Ha-Hb} = 2,7$, $J_{P-Hb} = 2,9$, $J_{Hc-Hb} = 7,3$, $N=CH_{(a)}-\underline{CH_{2(b)}}-\underline{CH_{2(c)}}-C$); 2,69 (m, 2H, $J_{Hc-Hb} = 7,2$, $J_{P-Hc} = 17,2$, $N=CH_{(a)}-\underline{CH_{2(b)}}-\underline{CH_{2(c)}}-C$); 4,20 (m, 4H, $J = 10,3$, $-O-\underline{CH_2}-CH_3$); 4,37 (m, 4H, $J = 10,3$, $-O-\underline{CH_2}-CH_3$); 6,42 (q, 1H, $J_{Ha-Hb} = 2,8$, $J_{P-Ha} = 3,1$, $N=\underline{CH_{(a)}}-\underline{CH_{2(b)}}-\underline{CH_{2(a)}}-C$) ppm.

^{13}C (100 MHz; $CDCl_3$) : δ 16,4 (s, $\underline{CH_3}-CH_2-O-P$); 27,7 (s, $N=CH-\underline{CH_2}-CH_2-C$); 27,8 (s, $N=CH-CH_2-\underline{CH_2}-C$); 63,9 (s, $CH_3-\underline{CH_2}-O-$); 64,5 (s, $CH_3-\underline{CH_2}-O-$); 136,5 (t, $J_{C-P} = 8,0$, $N=\underline{CH}-CH_2-$) ppm.

^{31}P (40 MHz; $CDCl_3$) : δ 15,5 ppm.

HRMS pour $C_{12}H_{25}NO_7P_2$

Masse théorique : 357,1106

Masse trouvée : 357,1127.

Spectre de masse pour $C_{12}H_{25}NO_7P_2$

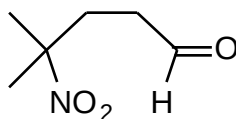
m/z : 220 ($[M-P(O)(OEt)_2]^+$, 23,20 %); 203 (35,37 %); 138 ($HP(O)(OEt)_2$, 3,10 %); 94 (53,52 %); 67 (100 %); 28 (22,45 %).

R_f : 0,26 (dichlorométhane / éthanol 19 / 1).

5.4. SYNTHÈSE DU 2,2-METHYL-4-DIETHOXYPHOSPHORYL-3,4-DIHYDRO-2H-PYRROLE-1-OXYDE (DOP-PD) 5

5.4.1. Via des réactions classiques (Voie n°1)

5.4.1.1. Synthèse du 4-méthyl-4-nitropentanal 65



Le 2-nitropropane **64** (17,8 g; 0,2 mol), l'acroléine (20,0 g; 0,35 mol) (distillée juste avant usage) et la triéthylamine (2,0 g), sont mis en solution dans 100 ml d'acétonitrile dans un ballon de 250 ml. La réaction s'effectue à température ambiante sous agitation et dure 65 heures. Le produit brut ainsi obtenu est ensuite versé dans un mélange de 500 ml d'eau et 30 ml d'acide chlorhydrique 1 N. On effectue une extraction par 3 fois 100 ml d'éther ; la phase organique est ensuite lavée par 100 ml d'eau puis séchée sur sulfate de sodium et évaporée à sec sous pression réduite. Le produit obtenu est une huile jaune pâle. La masse obtenue est de 27,8 g (rendement 96 %).

RMN

1H (200 MHz; $CDCl_3$) : δ 1,57 (s, 6H, CH_3-C-NO_2); 2,24 (t, 2H, $J = 6,2$, $O_2N-C-CH_2-CH_2-$ CHO); 2,52 (t, 2H, $J = 5,4$, $O_2N-C-CH_2-CH_2-CHO$); 9,77 (s, 1H, $-CH_2-\underline{C}HO$) ppm.

^{13}C (25 MHz; $CDCl_3$) : δ 25,6 ($\underline{C}H_3-C-NO_2$); 32,1 ($O_2N-C-\underline{C}H_2-CH_2-CHO$); 38,6 ($O_2N-C-CH_2-\underline{C}H_2-CHO$); 87,0 ($O_2N-\underline{C}-CH_2-$); 199,9 ($-CH_2-\underline{C}HO$) ppm.

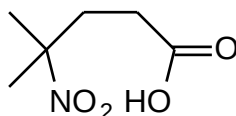
IR (sans solvant): 2992 ($\nu_{CH=O}$); 2731 ($\nu_{CH=O}$); 1725 ($\nu_{C=O}$); 1544 (NO_2); 1349 (NO_2); 1142; 856 (NO_2) cm^{-1} .

Analyse élémentaire pour $C_6H_{11}NO_3$

	C	H	N
Calc. (%)	49,63	7,64	9,65
Exp. (%)	49,59	7,56	9,72

R_f : 0,66 (dichlorométhane).

5.4.1.2. Synthèse de l'acide 4-méthyl-4-nitropentanoïque 107



L'aldéhyde **65** (1,0 g; 6,9 mmol) est mis en solution dans un mélange de 100 ml d'acétone et de 50 ml d'eau ; le sulfate de magnésium (1,6 g; 6,7 mmol; 1 éq.) est ajouté à la solution. Du permanganate de potassium (1,1 g; 7,0 mmol, 1 éq.), solubilisé dans 50 ml d'acétone, est additionné à la solution précédente pendant 5 heures. La solution rouge foncé est chauffée à 50 °C. Au bout d'une heure la solution devient limpide et un précipité se forme au fond du ballon. On laisse réagir pendant 20 heures, puis on évapore l'acétone et l'eau sous pression réduite. Le produit brut obtenu est solubilisé dans 100 ml d'eau chaude, puis filtré. Du $NaHCO_3$ est ajouté jusqu'à pH 9, et on effectue alors un lavage au chloroforme (50 ml). La phase aqueuse est acidifiée avec une solution d'acide chlorhydrique 1 N jusqu'à pH 1 et extraite par 2 fois 50 ml de dichlorométhane. La phase organique est séchée sur sulfate de sodium, puis après filtration, reconcentrée sous pression réduite, pour obtenir 450 mg d'une huile jaune pâle (rendement 40 %).

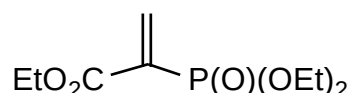
RMN

1H (200 MHz; $CDCl_3$) : δ 1,60 (s, 6H, $\underline{CH_3}$ -C- NO_2); 2,29 (t, 2H, $J = 5,9$, O_2N -C- $\underline{CH_2}$ - CH_2 -COOH); 2,40 (t, 2H, $J = 6,6$, O_2N -C- CH_2 - $\underline{CH_2}$ -COOH); variable de 8,2 à 11,3 (s, 1H, - $\underline{CH_2}$ -COOH) ppm.

^{13}C (25 MHz; $CDCl_3$) : δ 25,3 ($\underline{CH_3}$ -C- NO_2); 28,7 (O_2N -C- $\underline{CH_2}$ - CH_2 -COOH); 34,6 (O_2N -C- CH_2 - $\underline{CH_2}$ -COOH); 87,0 (O_2N - $\underline{C}$ - CH_2 -); 178,0 (- $\underline{CH_2}$ - $\underline{COOH}$) ppm.

5.4.2. Via l'introduction précoce du groupement phosphoré (Voie n°2)

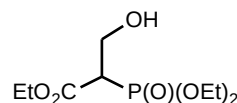
5.4.2.1. Synthèse du 2-diéthoxyphosphorylprop-2-énoate d'éthyle ¹⁰⁹₁₂



Dans un monocol de 100 ml, on chauffe à reflux pendant 1 h 20 une solution de paraformaldéhyde (1,5 g; 50,7 mmol), de pipéridine (0,4 g; 5,1 mmol) dans du méthanol (40 ml). Après refroidissement, on ajoute en 1 fois le diéthoxyphosphorylacétate d'éthyle (8,5 g; 37,7 mmol) et on rechauffe à reflux pendant 14 heures, puis le solvant est évaporé sous vide réduit. Le taux de conversion est de 100 %.

RMN

³¹P (40 MHz; CDCl₃) : δ 18,3 ppm pour **130**.



Le produit **130** brut est dissous dans 25 ml de toluène auquel on ajoute de l'acide paratoluènesulfonique (0,2 g). On chauffe à reflux pendant 4 heures dans un appareil Dean-Stark. Après refroidissement **109** est purifié par distillation sous pression réduite (P = 5 Pa). On obtient 1,8 g (rendement 20 %) de distillat incolore.

RMN

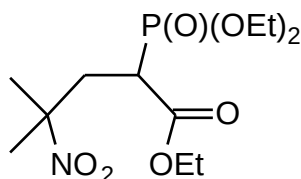
¹H (100 MHz; CDCl₃) : δ 1,36 (t, 9H, J = 7,1, CH₃-CH₂-O₂C-C(=)-P-O-CH₂-CH₃); 4,23 (q, 6H, J = 6,8, CH₃-CH₂-O₂C-C(=)-P-O-CH₂-CH₃); 6,63 (dd, 1H, J_{Ha-Hb} = 1,7, J_{P-Hb cis} = 14,2, (H_(a))H_(b)C=C-P cis); 7,04 (dd, 1H, J_{Ha-Hb} = 1,9, J_{P-Ha trans} = 35,8, H_(a)(H_(b))C=C-P trans) ppm.

³¹P (40 MHz; CDCl₃) : δ 11,1 ppm.

b.p. : 90-92 °C / 5 Pa.

R_f : 0,52 (dichlorométhane / éthanol 19 / 1).

5.4.2.2. Synthèse du 2-diéthoxyphosphoryl-4-méthyl-4-nitropentanoate d'éthyle 108¹³



Dans un monocol de 25 ml, on met **109** (0,8 g; 3,5 mmol), le 2-nitropropane (0,2 g; 2,2 mmol) et la triéthylamine (0,02 g; 0,2 mmol) en solution dans l'acétonitrile (1,0 g; 24,4 mmol). On laisse sous agitation à température ambiante pendant 115 heures. On ajoute ensuite une solution aqueuse d'acide chlorhydrique (eau : 15 ml, acide chlorhydrique 12 N : 0,5 ml) et on extrait par 2 fois 20 ml de dichlorométhane. On sèche sur Na₂SO₄ et après filtration et évaporation on reprend dans du dichlorométhane (1 ml). On purifie par chromatographie préparative sur plaque 1 mm (éluant dichlorométhane / éthanol absolu 20 / 1). Après extraction par du méthanol, filtration sur fritté 4 et évaporation du solvant on obtient 0,2 g (rendement 27 %).

RMN

¹H (200 MHz; CDCl₃) : δ 1,30 (t, 3H, J = 7,1, -CO₂-CH₂-CH₃); 1,34 (t, 3H, J = 7,1, CH₃-CH₂-O-P-); 1,35 (t, 3H, J = 7,1, CH₃-CH₂-O-P-); 1,54 (s, 3H, CH₃-C(NO₂)-); 1,61 (s, 3H, CH₃-C(NO₂)-); 2,61 (m, 2H, -CH₂-CH-P); 3,00 (ddd, 1H, J_{H(ab)-H} = 2,1, J_{H(ab)-H} = 8,6, J_{P-H} = 23,6, -CH_(a)H_(b)-CH-P); 4,19 (m, 6H, CH₃-CH₂-O-P-CH-CO₂-CH₂-CH₃) ppm.

¹³C (50 MHz; CDCl₃) : δ 13,9 (-CO₂-CH₂-CH₃); 16,1 (CH₃-CH₂-O-P-); 16,3 (CH₃-CH₂-O-P-); 24,7 (CH₃-C(NO₂)-); 26,4 (CH₃-C(NO₂)-); 36,9 (d, J_{C-P} = 4,8, -CH₂-CH-P); 41,7 (d, J_{C-P} = 129,1, -CH₂-CH-P); 61,9 (-CO₂-CH₂-CH₃); 63,1 (d, J_{C-P} = 3,9, CH₃-CH₂-O-P-); 63,4 (d, J_{C-P} = 3,9, CH₃-CH₂-O-P-); 87,3 (d, J_{C-P} = 14,5, CH₃-CH₂-CH-P); 168,7 (d, J_{C-P} = 6,2, -CH₂-O-C=O) ppm.

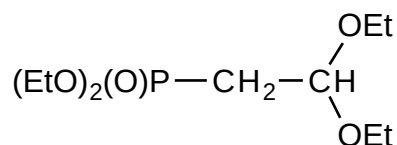
³¹P (40 MHz; CDCl₃) : δ 20,2 ppm.

Analyse élémentaire pour C₁₂H₂₄NO₇P

	C	H	N
Calc. (%)	44,31	7,44	4,31
Exp. (%)	44,31	7,42	4,23

R_f : 0,61 (dichlorométhane / éthanol 19 / 1).

5.4.2.3. Synthèse du 2,2-diéthoxyéthylphosphonate de diéthyle¹⁴



Dans un monocol, on chauffe à 170 °C pendant 4 heures du 2-bromo-1,1-diéthoxyéthane (15,8 g; 80,3 mmol) et du phosphite de triéthyle (26,8 g; 161,3 mmol; 2 éq.). Le produit est purifié par reconcentration lors d'une distillation sous pression réduite (P = 2666 Pa). On obtient 12,3 g (rendement 60 %).

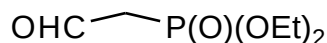
RMN

¹H (100 MHz; CDCl₃) : δ 1,29 (m, 12H, CH₃-CH₂-O-P-CH₂-CH-O-CH₂-CH₃); 2,18 (dd, 2H, J_{H-H} = 5,7, J_{P-H} = 18,6, P-CH₂-CH-O); 3,60 (m, 4H, J = 7,1, CH₃-CH₂-O-CH); 4,07 (q, 4H, J = 7,1, CH₃-CH₂-O-P-); 4,91 (m, 1H, -CH-(OEt)₂) ppm.

¹³C (25 MHz; CDCl₃) : δ 14,7 (CH₃-CH₂-O-CH); 15,6 (CH₃-CH₂-O-P-O); 16,0 (CH₃-CH₂-O-P-); 31,3 (d, J_{C-P} = 140,2, -P-CH₂-CH-O-); 61,0 (t, CH₃-CH₂-O-P-CH₂-CH-O-CH₂-CH₃); 97,9 (-CH₂O-CH-O-CH₂-) ppm.

³¹P (40 MHz; CDCl₃) : δ 25,2 ppm.

5.4.2.4. Synthèse du formylphosphonate de diéthyle¹⁴



On chauffe à reflux pendant 25 mn le 2,2-diéthoxyéthylphosphonate de diéthyle (12,3 g; 48,4 mmol) en présence d'une solution aqueuse (45 ml) d'acide chlorhydrique 32 % (5 ml). Une première purification est effectuée dans un appareil de Jalade pour solvant plus lourd que l'eau avec comme solvant du chloroforme (280 ml). La phase organique est séchée sur Na₂SO₄, puis filtrée et le solvant enlevé sous pression réduite. Après une distillation sous pression réduite (P = 53 Pa) on obtient 5,9 g (rendement 68 %) de liquide incolore. rendement de 41% par rapport au bromure de départ.

RMN

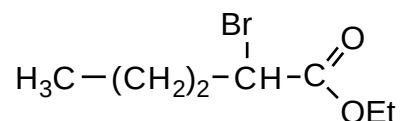
¹H (100 MHz; CDCl₃) : δ 1,35 (t, 6H, J = 7,0, CH₃-CH₂-O-P); 3,11 (dd, 2H, J_{H-H} = 3,1, J_{P-H} = 21,8, P-CH₂-CHO); 4,16 (q, 4H, J = 7,1, CH₃-CH₂-O-P-); 9,66 (m, 1H, J_{H-H} = 4,1, -CHO) ppm.

¹³C (25 MHz; CDCl₃) : δ 15,7 (CH₃-CH₂-O-P-O-CH₂-CH₃); 15,9 (CH₃-CH₂-O-P-O-CH₂-CH₃); 42,5 (d, J_{C-P} = 127,8, -P-CH₂-CHO-); 62,1 (d, J = 6,8, CH₃-CH₂-O-P); 192,6 (d, J = 6,4, -CHO) ppm.

³¹P (40 MHz; CDCl₃) : δ 17,9 ppm.

b.p. : 76 °C / 53 Pa.

5.4.2.5. Synthèse du 2-bromovalérate d'éthyle



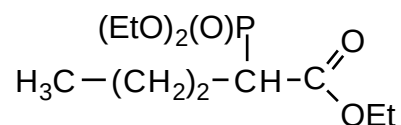
Dans un monocol, on met à reflux pendant 23 heures de l'acide 2-bromovalérique (5,0 g; 27,6 mmol), de l'acide sulfurique concentré (0,1 ml) et de l'éthanol absolu (50 ml; 847,8 mmol). Après évaporation de l'excès d'alcool, on reprend dans 50 ml de dichlorométhane, on lave par 30 ml d'eau saturée en NaCl et 2 fois 30 ml d'eau saturée en NaHCO₃. Après séchage sur Na₂SO₄, filtration et reconcentration sous pression réduite, on obtient 5,0 g (rendement 87 %) d'huile jaune.

RMN

¹H (200 MHz; CDCl₃) : δ 0,95 (t, 3H, J = 7,3, CH₃-(CH₂)₂-); 1,30 (t, 3H, J = 7,1, CH₃-CH₂-O-C=O); 1,39 (m, 4H, CH₃-(CH₂)₂-CH-); 2,01 (m, 1H, -CH₂-CH(Br)-C=O); 4,23 (q, 2H, J = 7,2, CH₃-CH₂-O-C=O) ppm.

¹³C (50 MHz; CDCl₃) : δ 13,2 (CH₃-CH₂-CH₂-); 13,9 (CH₃-CH₂-O-C=O); 20,5 (CH₃-CH₂-CH₂-CH-); 36,7 (CH₃-CH₂-CH₂-CH-); 45,8 (-CH₂-CH(Br)-C=O); 61,7 (CH₃-CH₂-O-C=O); 169,8 (-CH-CO₂-CH₂-) ppm.

5.4.2.6. Synthèse du 2-diéthoxyphosphorylpentanoate d'éthyle **131**¹⁵



On chauffe à 180 °C, sous courant d'azote, pendant 5 heures le 2-bromopentanoate d'éthyle (5,4 g; 25,8 mmol) avec du phosphite de triéthyle (8,7 g; 52,5 mmol; 2 éq.). La purification est réalisée par reconcentration lors d'une distillation sous pression réduite (P = 133 Pa) pour obtenir 4,7 g (rendement 68 %) de **131**.

RMN

¹H (200 MHz; CDCl₃) : δ 0,93 (t, 3H, J = 7,3, CH₃-(CH₂)₂-); 1,29 (t, 3H, J = 7,2, CH₃-CH₂-O-C=O); 1,34 (t, 6H, J = 7,1, P-O-CH₂-CH₃); 1,1-1,5 (m, 2H, CH₃-CH₂-CH₂-CH-); 1,7-2,1 (m, 2H, CH₃-CH₂-CH₂-CH-); 2,96 (ddd, 1H, J_{H-H} = 1,9, J_{H-H} = 5,7, J_{P-H} = 12,0, -CH₂-CH(P)-C=O); 4,18 (m, 6H, CH₃-CH₂-O-P-C(=O)-O-CH₂-CH₃) ppm.

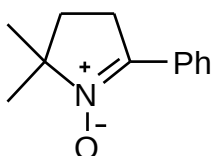
¹³C (50 MHz; CDCl₃) : δ 13,1 (CH₃-CH₂-O-C=O); 13,7 (CH₃-CH₂-CH₂-); 15,9 (CH₃-CH₂-O-P-O-CH₂-CH₃); 16,0 (CH₃-CH₂-O-P-O-CH₂-CH₃); 22,2 (d, J = 15,8, CH₃-CH₂-CH₂-CH-); 28,6 (d, J = 5,1, CH₃-CH₂-CH₂-CH-); 43,3 (d, J = 131,2, -CH₂-CH(P)-C=O); 60,8 (CH₃-CH₂-O-C=O); 62,1 (d, J = 4,8, CH₃-CH₂-O-P-); 62,3 (d, J = 4,7, CH₃-CH₂-O-P-); 168,9 (-CH-CO₂-CH₂-) ppm.

³¹P (40 MHz; CDCl₃) : δ 22,0 ppm.

5.5. SYNTHÈSE DU 2-DIETHOXYPHOSPHORYL-2-METHYL-5-PHENYL-3,4-DIHYDRO-2H-PYRROLE-1-OXYDE (DEPMPO-Ph) 6

5.5.1. Via l'addition d'un organomagnésien (Voie n°1)

5.5.1.1. Synthèse de la DMPO-Ph^{16,17}



A une suspension de magnésium (1,0 g; 41,7 mmol; 1,1 éq.) dans 10 ml d'éther diéthylique, on additionne en 30 mn une solution de bromobenzène (6,0 g; 38,2 mmol) dans 15 ml d'éther diéthylique. Lorsqu'il n'y a plus ébullition, on prélève 2 ml (3,0 mmol; 1,7 éq.) de cette solution qu'on additionne en 1 mn à une solution de DMPO **1** (200 mg; 1,8 mmol) dans de l'éther diéthylique (5 ml). On laisse sous agitation à température ambiante pendant 14 heures. On ajoute en 4 mn 2 ml d'une solution aqueuse saturée en NH_4Cl . Après filtration, la phase aqueuse est lavée par 2 fois 5 ml d'éther puis celui-ci est évaporé sous pression réduite jusqu'à obtenir un solide blanc qu'on redissout dans une solution de méthanol (10 ml) et d'ammoniaque 32 % (0,2 ml) en présence d'acétate de cuivre monohydraté (0,02 g; 0,1 mmol). On fait barboter de l'air jusqu'à ce que la solution jaune devienne bleue. Après reconcentration, l'amas bleu-vert est redissous dans 1 ml d'hexane. Après filtration, on laisse le filtrat cristalliser pour obtenir 447 mg (rendement 80 %) d'aiguilles blanches.

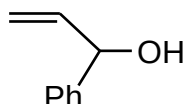
RMN

^1H (100 MHz; CDCl_3) : δ 1,48 (s, 6H, $\text{CH}_3\text{-C-N}$); 2,08 (t, 2H, $J = 6,9$, $\text{Ph-C(=)-CH}_2\text{-CH}_2\text{-C}$); 3,02 (t, 2H, $J = 7,3$, $\text{Ph-C(=)-CH}_2\text{-CH}_2\text{-C}$); 7,44 (m, 3H, aromatiques ortho et para); 8,37 (m, 2H, aromatiques méta) ppm.

^{13}C (25 MHz; CDCl_3) : δ 25,3 ($\text{CH}_3\text{-C-N}$); 26,7 ($\text{Ph-C(=)-CH}_2\text{-CH}_2\text{-C}$); 31,7 ($\text{Ph-C(=)-CH}_2\text{-CH}_2\text{-C}$); 75,1 ($\text{CH}_3\text{-C-CH}_2\text{-}$); 118,9 (Ph-C=N-); 126-129 (m, $\text{C}_6\text{H}_5\text{-}$) ppm.

5.5.2. Via la réduction d'un groupement nitro (Voie n°2)

5.5.2.1. Synthèse du 1-phénylprop-2-én-1-ol



Dans un bicol, à une suspension de magnésium (1,0 g; 41,7 mmol; 1,1 éq.) dans 10 ml d'éther diéthylique, on additionne en 30 mn une solution de bromobenzène (6,0 g; 38,2 mmol) dans 15 ml d'éther diéthylique. A cette solution on additionne en 15 mn de l'acroléine (2,1 g; 37,9 mmol). On laisse sous agitation à température ambiante pendant 3 heures puis on hydrolyse sur un mélange de glace (78 g), de NH_4Cl (10 g) et 150 ml d'eau. On agite à température ambiante pendant 1 heure et on extrait par de l'éther diéthylique (2 fois 100 ml) puis on sèche sur Na_2SO_4 . Après filtration et reconcentration on obtient 4,0 g (rendement 79 %) d'huile jaune.

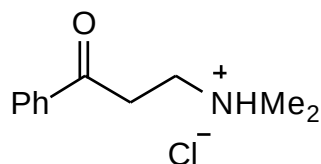
RMN

^1H (100 MHz; CDCl_3) : δ 2,61 (s, 1H, $-\text{CH}-\text{OH}$); 5,14 (d, 1H, $J_{\text{Hb-H cis}} = 10,6$, $(\text{H}_{(a)})\underline{\text{H}}_{(b)}\text{C}=\text{CH}-\text{CH}-\text{cis}$); 5,26 (d, 1H, $J_{\text{Hb-H trans}} = 21,7$, $\underline{\text{H}}_{(a)}(\text{H}_{(b)})\text{C}=\text{CH}-\text{CH}-\text{trans}$); 5,8-6,2 (m, 2H, $\text{H}_{(a)}\text{H}_{(b)}\text{C}=\underline{\text{CH}}-\underline{\text{CH}}-\text{OH}$); 7,31 (s, 5H, C_6H_5 -) ppm.

^{13}C (25 MHz; CDCl_3) : δ 75,1 ($=\text{CH}-\underline{\text{CH}}-\text{OH}$); 114,9 ($\underline{\text{CH}}_2=\text{CH}-$); 126,2 (aromatiques ortho); 127,5 (aromatique para); 128,4 (aromatiques méta); 140,1 ($\text{CH}_2=\underline{\text{CH}}-\text{CH}-$); 142,5 (aromatique quaternaire) ppm.

$\underline{\text{R}}_{\text{f}}$: 0,65 (dichlorométhane / éthanol 19 / 1),

5.5.2.2. Synthèse du chlorhydrate de la 3-diméthylamino-1-phénylpropan-1-one ¹⁵⁸



Dans un monocol de 250 ml, on met le chlorhydrate de la diméthylamine (26,5 g; 0,33 mol), le paraformaldéhyde (10,0 g; 0,33 mol) et l'acétophénone (33,1 g; 0,28 mol) auxquels on ajoute une solution hydro-alcoolique (éthanol 95 % 40 ml) d'acide chlorhydrique (1,5 ml). On chauffe à reflux pendant 2 heures. Après transvasement à chaud dans un erlenmeyer, on ajoute 200 ml d'acétone puis on laisse à +4 °C pendant 20 heures pour finir la cristallisation. Après filtration sur büchner, lavage par 2 fois 10 ml d'acétone et séchage à l'étuve (pendant 6 heures, température 51 °C), on obtient 38 g (rendement 65 %) de poudre blanche.

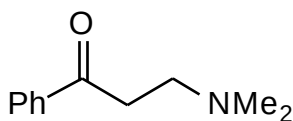
RMN

¹H (100 MHz; D₂O) : δ 2,75 (s, 6H, CH₃-N⁺H-CH₂-); 3,36 (m, 4H, N⁺H-CH₂-CH₂-C=O); 7,40 (m, 3H, aromatiques ortho et para); 7,75 (m, 2H, aromatiques méta) ppm.

¹³C (25 MHz; D₂O) : δ 35,6 (-CH₂-CH₂-N⁺H-CH₃); 45,6 (CH₃-N⁺H-CH₂); 55,4 (O=C-CH₂-CH₂-N); 130,8 et 131,5 (aromatiques ortho et méta); 137,1 (aromatique para); 137,6 (aromatique quaternaire); 202,4 (Ph-C=O) ppm.

m.p. : 165 °C (litt. : 155 °C)¹⁸.

5.5.2.3. Synthèse de la 3-diméthylamino-1-phénylpropan-1-one 162¹⁹



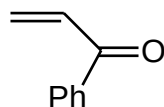
A une solution aqueuse (50 ml) de K_2CO_3 (20,0 g; 144,7 mmol), on ajoute le chlorhydrate **158** (4,0 g; 18,7 mmol). On agite 1 heure et on sépare la phase huileuse, la phase aqueuse est extraite par 3 fois 50 ml de dichlorométhane puis après avoir rassemblé les phases organiques, on sèche sur Na_2SO_4 . On filtre et après évaporation on obtient 2,8 g (rendement 83 %) d'huile.

RMN

1H (200 MHz; $CDCl_3$) : δ 2,29 (s, 6H, CH_3-N); 2,76 (t, 2H, $J = 7,6$, $O=C-CH_2-CH_2-N$); 3,16 (t, 2H, $J = 7,1$, $O=C-CH_2-CH_2-N$); 7,49 (m, 3H, aromatiques ortho et para); 7,97 (m, 2H, aromatiques méta) ppm.

^{13}C (50 MHz; $CDCl_3$) : δ 36,8 ($O=C-CH_2-CH_2-N$); 45,4 (CH_3-N-CH_2-); 54,3 ($O=C-CH_2-CH_2-N$); 127,9 et 128,5 (aromatiques ortho et méta); 132,9 (aromatique para); 136,7 (aromatique quaternaire); 198,9 ($Ph-C(=O)-CH_2-$) ppm.

5.5.2.4. Synthèse de la phénylvinylcétone 138¹⁸



Dans un monocol surmonté d'une colonne à distiller, on met du chlorhydrate de la 3-diméthylamino-1-phénylpropan-1-one **158** (5,3 g; 24,9 mmol) et de l'hydroquinone (0,2 g). On chauffe à 230 °C, sous pression réduite (P = 200 Pa). On récupère 2,1 g (rendement 63 %) de liquide incolore que l'on conserve sur hydroquinone.

RMN

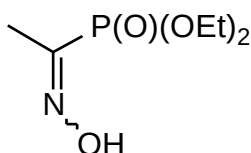
¹H (200 MHz; CDCl₃) : δ 5,92 (dd, 1H, J_{Ha-Hb} = 1,8, J_{Hb-Hc cis} = 10,5, (H_(a))H_(b)C=C(H_(c))-C=O); 6,43 (dd, 1H, J_{Ha-Hb} = 1,8, J_{Ha-Hc trans} = 17,1, H_(a)(H_(b))C=C(H_(c))-C=O); 7,15 (dd, 1H, J_{Hb-Hc cis} = 10,6, J_{Ha-Hc trans} = 17,2, (H_(a))H_(b)C=CH_(c)-C=O); 7,49 (m, 3H, aromatiques ortho et para); 7,93 (m, 2H, aromatiques méta) ppm.

¹³C (50 MHz; CDCl₃) : δ 128,5 (aromatiques ortho et méta); 130,0 et 132,2 (CH₂=CH-C=O); 132,8 (aromatique para); 137,1 (aromatique quaternaire); 190,8 (Ph-C(=O)-CH=) ppm.

b.p. : 64-66 °C / 200 Pa.

R_f : 0,83 (dichlorométhane / éthanol 19 / 1).

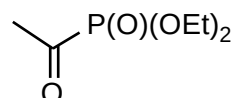
5.5.2.5. Synthèse du (1-hydroxyiminoéthan-1-yl)phosphonate de diéthyle 161²⁰



Après avoir porté à reflux sous courant d'azote du chlorure d'acétyle (14,1 g; 180,0 mmol), on ajoute du phosphite de triéthyle (29,0 g; 174,5 mmol) en 30 mn. Le chlorure d'acétyle en excès est éliminé sous pression réduite (P = 2666 Pa).

RMN

³¹P (40 MHz; CDCl₃) : δ 19,6 ppm pour **140**.



Le mélange réactionnel brut contenant **140** est versé sur une solution de chlorhydrate d'hydroxylamine (15,3 g; 220,2 mmol) et de pyridine (25 ml; 309,1 mmol) dans de l'éthanol

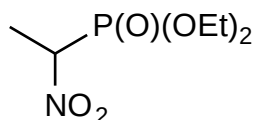
absolu (50 ml). On laisse sous agitation à température ambiante pendant 21 heures. L'éthanol est évaporé sous pression réduite et le brut repris par 150 ml de dichlorométhane. La phase organique est lavée successivement par une solution aqueuse (20 ml) d'acide chlorhydrique 12 N (20 ml), une solution aqueuse saturée en NaHCO_3 (20 ml), de l'eau (2 fois 20 ml) et par une solution aqueuse saturée en NaCl (2 fois 20 ml). On sèche sur Na_2SO_4 et après filtration et reconcentration on obtient 27,0 g (rendement 79 %) d'huile incolore.

RMN

^1H (100 MHz; CDCl_3) : δ 1,34 (t, 6H, $J = 7,0$, $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-O-P}$); 1,98 et 2,09 (2s, 3H, $\text{CH}_3\text{-C(-)=N-OH}$ syn et anti); 4,16 (q, 4H, $J = 7,8$, $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-O-P}$) ppm.

^{31}P (40 MHz; CDCl_3) : δ 9,9 ppm.

5.5.2.6. Synthèse du 1-nitroéthylphosphonate de diéthyle 137²⁰



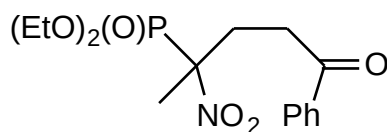
On met sous agitation à température ambiante du (1-hydroxyiminoéthan-1-yl)phosphonate de diéthyle **161** (6,0 g; 30,8 mmol) et de l'acide *mé*ta-chloroperbenzoïque (7,2 g; 30,4 mmol) dans du dichlorométhane (90 ml). On extrait par une solution saturée en NaHCO_3 et Na_2SO_3 (2 fois 50 ml), par de l'eau (2 fois 50 ml) et par une solution aqueuse saturée en NaCl (50 ml). On sèche sur Na_2SO_4 , puis on filtre et on reconcentre sous pression réduite pour obtenir 3,6 g (rendement 56 %) d'huile orange.

RMN

^1H (100 MHz; CDCl_3) : δ 1,37 (t, 6H, $J = 7,0$, $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-O-P}$); 1,81 (dd, 3H, $J_{\text{H-H}} = 7,2$, $J_{\text{P-H}} = 20,0$, $\text{CH}_3\text{-C}^*\text{H-P}$); 4,25 (q, 4H, $J = 7,1$, $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-O-P}$); 5,03 (2q, 1H, $J = 8,3$, $\text{CH}_3\text{-C}^*\text{H-P}$) ppm.

^{31}P (40 MHz; CDCl_3) : δ 12,6 ppm.

5.5.2.7. Synthèse du (2-nitro-5-oxo-5-phénylpentan-2-yl)phosphonate de diéthyle 136¹³



Dans un monocol, on met sous agitation à température ambiante pendant 68 heures la phénylvinylcétone **138** (2,1 g; 15,8 mmol), le dérivé nitré **137** (3,20 g; 15,2 mmol) et la triéthylamine (0,2 g; 1,4 mmol) dans l'acétonitrile (7 ml). On ajoute une solution aqueuse (67 ml) d'acide chlorhydrique 37 % (3 ml) puis on extrait par 2 fois 100 ml de dichlorométhane et on sèche sur Na₂SO₄. On filtre et on reconcentre sous pression réduite pour obtenir 3,7 g (rendement 71 %) de solide jaune.

RMN

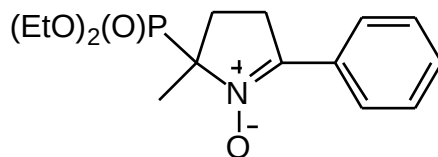
¹H (100 MHz; CDCl₃) : δ 1,38 (t, 6H, J = 7,0, CH₃-CH₂-O-P); 1,87 (d, 3H, J_{P-H} = 14,3, CH₃-C*(NO₂)-CH₂-); 2,79 (t, 2H, J = 6,9, C-CH₂-CH₂-C=O); 3,13 (t, 2H, J = 6,9, C-CH₂-CH₂-C=O); 4,27 (q, 4H, J = 6,8, CH₃-CH₂-O-P); 7,50 (m, 3H, aromatiques ortho et para); 7,95 (m, 2H, aromatiques méta) ppm.

³¹P (40 MHz; CDCl₃) : δ 15,6 ppm.

Spectre de masse pour C₁₅H₂₂NO₆P

m / z : 343 (non observé); 315 ([M-C₂H₄]⁺, 1,59 %); 297 ([M-NO₂]⁺, 0,71 %); 179 (9,98 %); 135 (3,44 %); 105 (Ph-C=O, 100 %); 77 (Ph, 29,15 %).

**5.5.2.8. Synthèse du 2-diéthoxyphosphoryl-2-méthyl-5-phényl-3,4-dihydro- 2H-pyrrole-1-oxyde
(DEPMPO-Ph) ⁶⁶**



A une solution de **136** (1,0 g; 2,9 mmol) dans 6 ml d'éthanol absolu, on ajoute le zinc (0,4 g; 6,1 mmol; 2,1 éq.). Après avoir refroidi à 0 °C, on ajoute en 1 fois de l'acide acétique glacial (0,7 g; 11,7 mmol; 4 éq.), on agite à température ambiante pendant 3 h 30 puis on laisse à +4 °C pendant 48 heures. On filtre sur fritté 4 puis on rince l'acétate de zinc par 2 fois 10 ml d'éthanol 95 % et le solvant est évaporé sous pression réduite, et le résidu blanc est repris dans 20 ml de dichlorométhane puis on lave avec une solution aqueuse saturée en NaHCO₃ (10 ml). On sèche sur Na₂SO₄ et après filtration et reconcentration à l'évaporateur rotatif on effectue une chromatographie sur colonne de silice (éluant éther diéthylique). On obtient 200 mg (rendement 22 %) d'huile jaune.

RMN

¹H (200 MHz; CDCl₃) : δ 1,31 (t, 3H, J = 7,2, CH₃-CH₂-O-P); 1,33 (t, 3H, J = 7,1, CH₃-CH₂-O-P-); 1,78 (d, 3H, J_{p-H} = 15,0, CH₃-C*-CH₂-); 2,0-2,2 et 2,7-3,2 (2m, 4H, C-CH₂-CH₂-C=); 4,21 (q, 4H, J = 7,0, CH₃-CH₂-O-P); 7,42 (m, 3H, aromatiques ortho et para); 8,45 (m, 2H, aromatiques méta) ppm.

¹³C (50 MHz; CDCl₃) : δ 16,0 (CH₃-CH₂-O-P-); 16,1 (CH₃-CH₂-O-P-); 20,8 (CH₃-C*-CH₂-); 27,7 et 27,9 (-C-CH₂-CH₂-C=); 62,5 (d, J = 7,8, CH₃-CH₂-O-P-); 63,3 (d, J = 7,1, CH₃-CH₂-O-P-); 77,0 (d, J = 155,5, CH₃-C*-CH₂-); 127,0 et 127,9 (aromatiques ortho et méta); 129,0 (aromatique quaternaire); 130,0 (aromatique para); 140,3 (d, J = 9,0, Ph-C=N⁺-) ppm.

³¹P (40 MHz; CDCl₃) : δ 22,3 ppm.

HRMS pour C₁₅H₂₂NO₄P

Masse théorique : 311,1286

Masse trouvée : 311,1292.

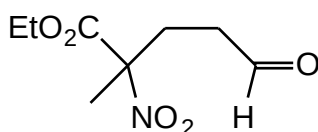
Spectre de masse pour C₁₅H₂₂NO₄P

m / z : 174 (100 %); 158 (22,07 %); 104 (4,43 %); 105 (ion tropylium, 7,94 %); 91 (ion tropylium, 2,52 %); 77 (phényl, 6,60 %).

R_f : 0,16 (éther diéthylique); 0,64 (acétone); 0,41 (dichlorométhane / éthanol 19 / 1).

5.6. SYNTHESE DU 2-ETHOXYCARBONYL-2-METHYL-3,4-DIHYDRO-2H-PYRROLE-1-OXYDE (EMPO) 7

5.6.1. Synthèse du 4-formyl-2-méthyl-2-nitrobutanoate d'éthyle 166¹³



On agite à 10 °C pendant 1 heure du 2-nitropropanoate d'éthyle (0,3 g; 2,3 mmol), de l'acroléine fraîchement distillée (0,2 g; 3,8 mmol) et de la triéthylamine (0,02 g; 0,2 mmol) dans de l'acétonitrile (1,0 g; 24,4 mmol). On ajoute une solution aqueuse (15 ml) d'acide chlorhydrique (0,5 ml) et on extrait par 2 fois 20 ml de dichlorométhane et on sèche sur Na₂SO₄, on filtre, on reconcentre à l'évaporateur rotatif pour obtenir 461 mg (rendement 98 %) de liquide incolore.

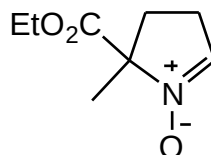
RMN

¹H (200 MHz; CDCl₃) : δ 1,30 (t, 3H, J = 7,2, CH₃-CH₂-O); 1,79 (s, 3H, CH₃-C*-CH₂-); 2,4-2,7 (m, 4H, C-CH₂-CH₂-CHO); 4,28 (q, 2H, J = 7,2, CH₃-CH₂-O); 9,76 (s, 1H, -CHO) ppm.

¹³C (50 MHz; CDCl₃) : δ 13,5 (CH₃-CH₂-O); 21,4 (CH₃-C*-CH₂-); 28,4 (-C-CH₂-CH₂-CHO); 38,1 (-C-CH₂-CH₂-CHO); 62,8 (CH₃-CH₂-O); 91,5 (CH₃-C*-CH₂-); 166,7 (-C*-CO₂-CH₂-); 199,1 (-CHO) ppm.

R_f : 0,73 (dichlorométhane / éthanol 19 / 1).

5.6.2. Synthèse du 2-éthoxycarbonyl-2-méthyl-3,4-dihydro-2H-pyrrole-1-oxyde (EMPO) ⁷²¹



On prépare une solution aqueuse (6 ml) de chlorure d'ammonium (1,4 g). On prélève 0,8 ml de cette solution (3,54 mmol) qu'on additionne à une solution de **166** (0,5 g; 2,5 mmol) dans une solution eau-méthanol (6 ml d'une solution 6 / 4). On ajoute en 30 mn du zinc en poudre (844 mg; 12,9 mmol) puis on laisse sous agitation à température ambiante pendant 4 h 30. On filtre sur fritté, le précipité est rincé par 5 fois 3 ml de méthanol puis on reconcentre jusqu'à environ 1 ml. On sature de borax et on extrait par 2 fois 6 ml de dichlorométhane puis on sèche sur Na₂SO₄. Après filtration et évaporation sous pression réduite, on purifie par chromatographie préparative sur plaque 1 mm (éluant dichlorométhane / éthanol 185 / 15). Après extraction par du méthanol, filtration et évaporation du solvant on obtient 0,2 g (rendement 52 %) de liquide jaune.

RMN

¹H (200 MHz; CDCl₃) : δ 1,30 (t, 3H, J = 7,1, CH₃-CH₂-O); 1,70 (s, 3H, CH₃-C*-CH₂-); 2,1-2,3 et 2,5-2,8 (2m, 4H, C-CH₂-CH₂-C=); 4,24 et 4,26 (2q, 2H, J = 7,1, CH₃-CH₂-O); 7,00 (t, 1H, J = 2,6, -CH₂-CH=N) ppm.

¹³C (50 MHz; CDCl₃) : δ 13,3 (CH₃-CH₂-O); 20,2 (CH₃-C*-CH₂-); 25,3 (-C-CH₂-CH₂-C=); 31,7 (-C-CH₂-CH₂-C=); 61,5 (CH₃-CH₂-O); 78,3 (CH₃-C*-CH₂-); 134,7 (-CH₂-CH=N); 169,2 (-C*-CO₂-CH₂-) ppm.

HRMS pour C₈H₁₃NO₃

Masse théorique : 171,0895

Masse trouvée : 171,0896.

Spectre de masse pour C₈H₁₃NO₃

m / z : 98 ([M-CO₂Et]⁺, 100 %); 82 (64,37 %); 57 (21,49 %); 55 (38,28 %); 41 (36,06 %); 29 (Et, 50,01 %); 28 (96,14 %); 18 (40,91 %).

R_f : 0,39 (dichlorométhane / éthanol 19 / 1).

5.7.R.P.E. - SPIN-TRAPPING

Général. La xanthine oxydase (XO) et la superoxydedismutase d'érythrocytes bovins (SOD) ont été acquises auprès de la société Boehringer Mannheim Biochemica Co. La catalase, la glutathion peroxydase, l'acide diéthylènetriaminepentaacétique (DTPA), la résine "Chelex" et les autres produits ont été fournis par Sigma Chemical Co. Les tampons phosphates (0,1 M) ont été traités préalablement pendant 4 heures par agitation en présence d'une résine "Chelex" de type acide iminodiacétique (4g / 100 ml) afin d'éliminer toute trace d'impureté métallique ; après filtration les solutions sont conservées dans des flacons en plastique (polyéthylène)²². Sauf précision contraire, les expériences de RPE ont été réalisées dans un tampon phosphate. Les spectres de RPE ont été réalisés sur les spectromètres Varian E3 et Bruker ESP 300, ce dernier étant équipé d'un gaussmètre et d'une unité de température variable. La photolyse UV a été effectuée à l'aide d'une lampe Oriel Xe-Hg (1000 W). L' éclairage des solutions flavine / DTPA pour la production du superoxyde a été effectué soit à l'aide d'une lampe à filament tungstène (100 W), soit par une diode placée directement dans le tube RPE (lumière bleue everlight, 430 nm, 600 mcd / 20 mA). Pour la préparation des solutions RPE, les concentrations indiquées ci dessous correspondent à celles mises en oeuvre après mélange des différentes solutions de réactifs. Le délai entre la préparation de la solution et le début de l'acquisition du spectre RPE sera précisé.

5.7.1.Radical hydroxyle HO•

5.7.1.1.Réaction de Fenton

On ajoute une solution de FeSO_4 / DTPA au mélange nitron / H_2O_2 pour obtenir les concentrations suivantes :

$$[\text{Nitron}] = 0,1 \text{ M}, [\text{DTPA}] = 1 \text{ mM}, [\text{H}_2\text{O}_2] = 2 \text{ mM}, [\text{Fe}^{2+}] = 2 \text{ mM}.$$

L'enregistrement débute environ 40 s après l'addition de FeSO_4 .

5.7.1.2. Photolyse de l'eau oxygénée à 1 %

La réaction est effectuée dans l'eau bidistillée. La concentration finale en nitrone est :

$$[\text{Nitron}] = 50 \text{ mM.}$$

L'enregistrement du spectre débute après 15 s de photolyse UV dans la cavité.

5.7.1.3. Addition nucléophile de l'eau

La réaction est effectuée dans l'eau bidistillée ou dans un tampon phosphate. Les concentrations finales sont :

$$[\text{Nitron}] = 25 \text{ mM}, [\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2] = 1 \text{ mM.}$$

L'enregistrement débute environ 40 s après mélange des réactifs.

5.7.2. Radical anion superoxyde $\text{O}_2^{\cdot-}$

5.7.2.1. Hypoxanthine-xanthine oxydase

La solution de xanthine oxydase est rajoutée au mélange des autres réactifs. Les concentrations finales sont :

$$[\text{Nitron}] = 0,1 \text{ M}, [\text{DTPA}] = 1 \text{ mM}, [\text{Hypoxanthine}] = 0,4 \text{ mM},$$

$$[\text{Xanthine oxydase}] = 0,4 \text{ unités.ml}^{-1}.$$

L'enregistrement débute environ 40 s après l'addition de la xanthine oxydase.

* Test à la Superoxydedismutase (SOD) :

On ajoute de la superoxydedismutase avant de mélanger les solutions ci-dessus :

$$[\text{SOD}] = 85 \text{ unités.ml}^{-1}.$$

* Test au Glutathion / Glutathion peroxydase :

On ajoute le glutathion et la glutathion peroxydase après production de l'adduit superoxyde :

$$[\text{Glutathion}] = 0,1 \text{ M}, [\text{Glutathion peroxydase}] = 10 \text{ unités.ml}^{-1}.$$

Dans les deux cas, l'enregistrement débute environ 40 s après addition des réactifs.

5.7.2.2.Flavine en présence d'un donneur d'électron

On éclaire une solution de composition suivante :

$$[\text{Nitron}] = 50 \text{ mM}, [\text{DTPA}] = 4,5 \text{ mM}, [\text{Flavine}] = 0,1 \text{ mM}.$$

L'enregistrement est effectué après éclairage à l'intérieur ou à l'extérieur de la cavité : ceci est fonction de la nitron utilisée. De plus le temps d'éclairage est variable d'une nitron à l'autre : on arrête la lumière lorsque l'état stationnaire est atteint. Suivant le solvant employé, on utilise la riboflavine ou la lumiflavine.

5.7.2.3.Photolyse de l'eau oxygénée à 30 %

La réaction est effectuée dans l'eau oxygénée. La concentration finale en nitron est :

$$[\text{Nitron}] = 50 \text{ mM}.$$

L'enregistrement du spectre est effectué après 15 secondes de photolyse UV dans la cavité.

5.7.3.Radical méthyle $\text{CH}_3^\bullet$

5.7.3.1.A partir de la réaction de Fenton

Dans un système de Fenton (§ 5.7.1.1 page 248), du diméthylsulfoxyde est ajouté au milieu réactionnel avant addition du sulfate ferreux.

$$[\text{DMSO}] = 0,1 \text{ M}.$$

L'enregistrement débute environ 40 s après l'addition de la solution de FeSO_4 .

5.7.3.2. Par photolyse de l'iodure de méthyle

La réaction est effectuée dans le benzène. Les concentrations sont :

$$[\text{Nitron}] = 10 \text{ mM}, [\text{CH}_3\text{I}] = 0,5 \text{ M}.$$

L'enregistrement du spectre est effectué après 15 secondes de photolyse UV dans la cavité.

5.7.4. Radical $\text{CO}_2^{\bullet-}$

Dans un système de Fenton (§ 5.7.1.1 page 248), du formiate de sodium est ajouté au milieu réactionnel avant addition du sulfate ferreux.

$$[\text{HCO}_2\text{Na}] = 50 \text{ mM}.$$

L'enregistrement débute environ 40 s après l'addition de FeSO_4 .

5.7.5. Radical glutathionyle $\text{GS}^{\bullet}$

La réaction est effectuée dans une cellule plate en quartz. Les concentrations sont :

$$[\text{Nitron}] = 50 \text{ mM}, [\text{GSSG}] = 50 \text{ mM}.$$

L'enregistrement du spectre est effectué après 15 secondes de photolyse UV dans la cavité.

5.7.6. Radical *tert*iobutoxyle $\text{tBuO}^{\bullet}$

La réaction est effectuée, dans une cellule plate en quartz, dans le peroxyde de di-*tert*iobutyle. La concentration en nitron est :

$$[\text{Nitron}] = 50 \text{ mM}.$$

L'enregistrement du spectre est effectué après 15 secondes de photolyse UV dans la cavité.

5.7.7. Radical *tertiobutperoxyle* tBuOO•

La réaction est effectuée, dans une cellule plate en quartz, dans l'hydroperoxyde de *tertiobutyle* à 70 % dans l'eau. La concentration en nitrone est :

$$[\text{Nitrone}] = 50 \text{ mM.}$$

L'enregistrement du spectre est effectué après 15 secondes de photolyse UV dans la cavité.

5.7.8. Adduit H

Pour les études conformationnelles ou les études en fonction de la nature du solvant sur les nitroxydes **70NO**, **73NO** et **90NO**, nous avons oxydé les pyrrolidines correspondantes **70**, **73** et **90** par de l'acide *méta*-chloroperbenzoïque dans différents solvants. Les concentrations sont :

$$[\text{Pyrrolidine}] = 0,1 \text{ M, } [m\text{CPBA}] = 0,1 \text{ M.}$$

L'enregistrement du spectre est effectué après dégazage sous vide de la solution RPE.

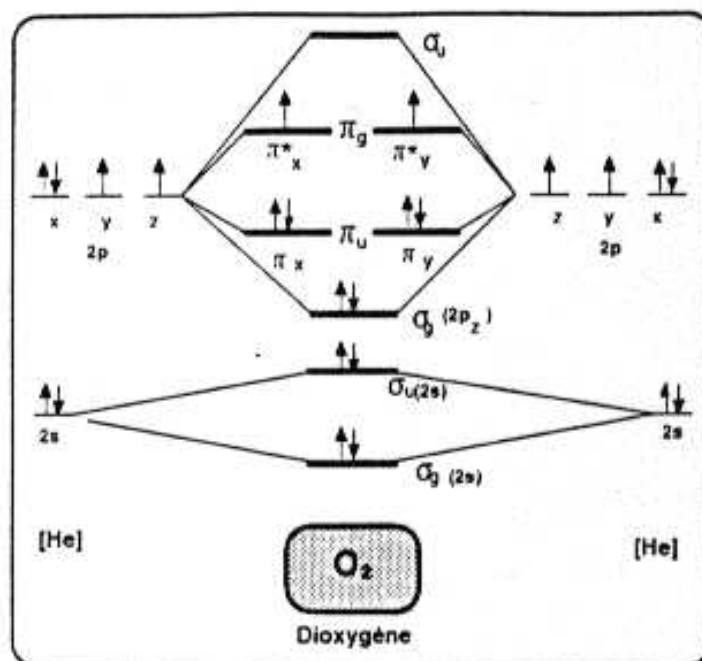
5.8. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- (1) Padwa, A.; Kulkarni, Y. S.; Zhang, Z. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 4144-4153.
- (2) Hegedus, L. S.; McKearin, J. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 2444-2449.
- (3) Tamaru, Y.; Kawamura, S.-I.; Bando, T.; Tanaka, K.; Hojo, M.; Yoshida, Z.-I. *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 5491-5501.
- (4) Breuer, E.; Karaman, R.; Goldblum, A.; Gibson, D.; Leader, H.; Potter, B. V. L.; Cummins, J. H. *J. Chem. Soc. Perkins Trans. 1* **1988**, 3047-3056.
- (5) Varlet, J. M.; Collignon, N.; Savignac, P. *Tetrahedron Lett.* **1981**, *37*, 3713-3721.
- (6) Haire, D. L.; Hilborn, J. W.; Janzen, E. G. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 4298-4300.
- (7) Iffland, D. C.; Criner, G. X.; Koral, M.; Lotspeich, F. J.; Papanastassiou, Z. B.; White Jr, S. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1953**, *75*, 4044-4046.
- (8) Hawkes, G. E.; Herwig, K.; Roberts, J. D. *J. Org. Chem.* **1974**, *39*, 1017-1028.
- (9) Zilch, H.; Esswein, A.; Bauss, F. *Brevet allemand* **1992**, DE 41 14 586 A 1,
- (10) Adam, W.; Bialas, J.; Hadjiarapoglou, L. *Chem. Ber.* **1991**, *124*, 2377-2383.
- (11) Brik, M. E. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 5519-5522.
- (12) Taylor, E. C.; Davies, H. M. L. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 1537-1540.
- (13) Ono, N.; Kamimura, A.; Miyake, H.; Hamamoto, I.; Kaji, A. *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 3692-3698.
- (14) Gryszkiewicz-Trochimowski, E.; Chmelevsky, A. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1966**, 2043-2044.
- (15) Ackerman, B.; Chladek, R. M.; Swern, D. *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, *79*, 6524-6526.
- (16) Janzen, E. G.; Zhang, Y.-K.; Haire, D. L. *Magnetic Resonance in Chemistry* **1994**, *32*, 711-720.
- (17) Janzen, E. G.; Zhang, Y.-K.; Haire, D. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 3738-3743.
- (18) Furniss, B. S.; Hannaford, A. J.; Rogers, V.; Smith, P. W. G.; Tatchell, A. R. In *Vogel's Textbook of practical organic chemistry*; 4eme edition ed. Longman: London and New-York, **1978**; pp 815-816.
- (19) Sawamura, M.; Hamashima, H.; Ito, Y. *Tetrahedron* **1994**, *50*, 4439-4454.
- (20) Zòn, J. *Synthesis* **1984**, 661-663.
- (21) Keana, J. F.; Pou, S. *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 2417-2420.
- (22) Karoui, H., Synthèse d'une nouvelle nitrone phosphorylée: la 5-diéthoxyphosphoryl-5-méthyl-1-pyrroline N-oxide (DEPMPO). Applications au piégeage *in vitro* et *in vivo* des radicaux libres centrés sur l'oxygène., Thèse de Chimie Organique, Aix Marseille III, **1994**.

6. ANNEXES

Ce qui ne nous tue pas nous rend plus fort.
(Friedrich Nietzsche)

6.1. DIAGRAMMES DE O_2

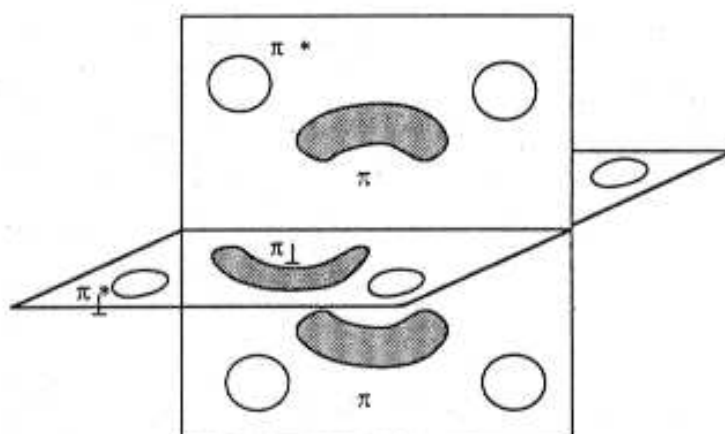


Ordre de liaison : 2

Longueur de liaison = 1,21 Å

$\nu_{O-O} = 1556 \text{ cm}^{-1}$

Schéma 6-1 : Diagramme de l'oxygène triplet¹



π orbitals : - 17.6 eV

π^* orbitals : - 6.0 eV

Schéma 6-2 : Représentation simplifiée des orbitales moléculaires de O_2 ²

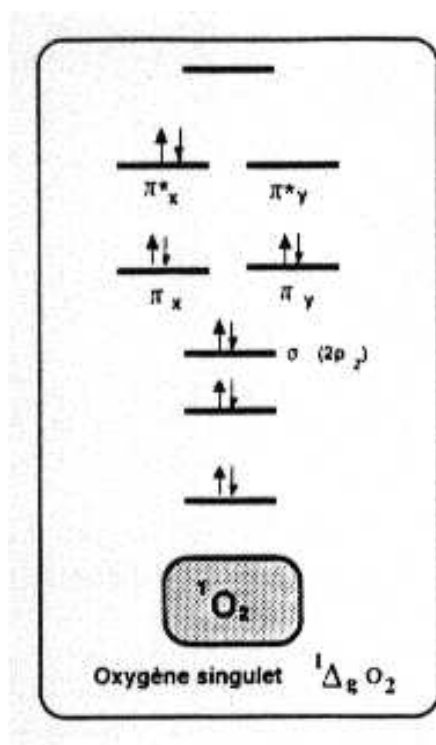


Schéma 6-3 : Diagramme de l'oxygène singulet¹

6.2.SYNTHESE DE 3

Dans une première partie nous présentons les diverses voies de synthèse entreprises mais dont une des étapes en début de schéma réactionnel n'a pu aboutir au produit attendu.

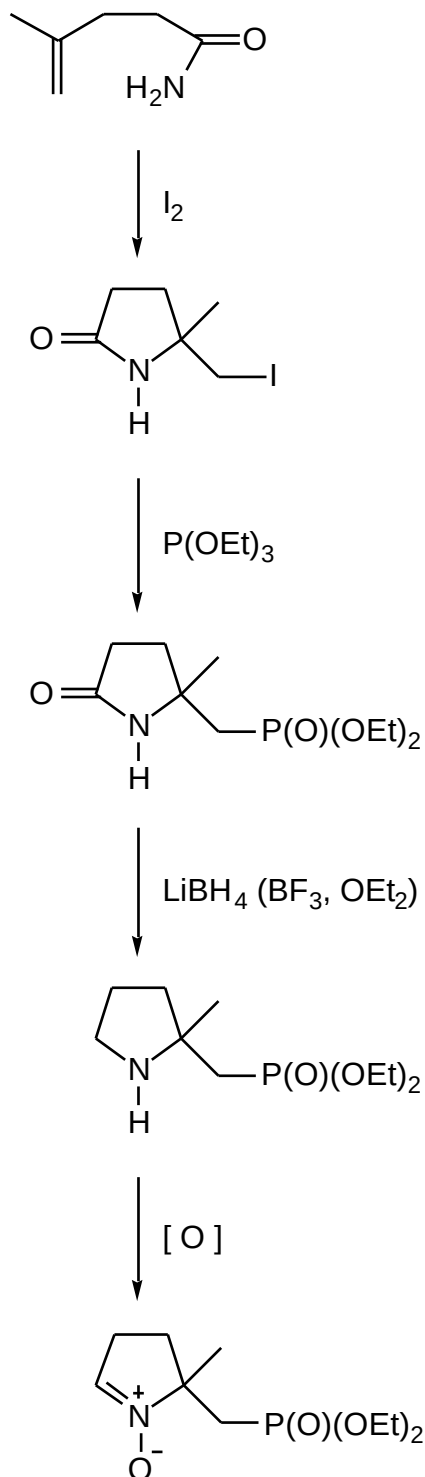


Schéma 6-4 : Voie de synthèse débutée

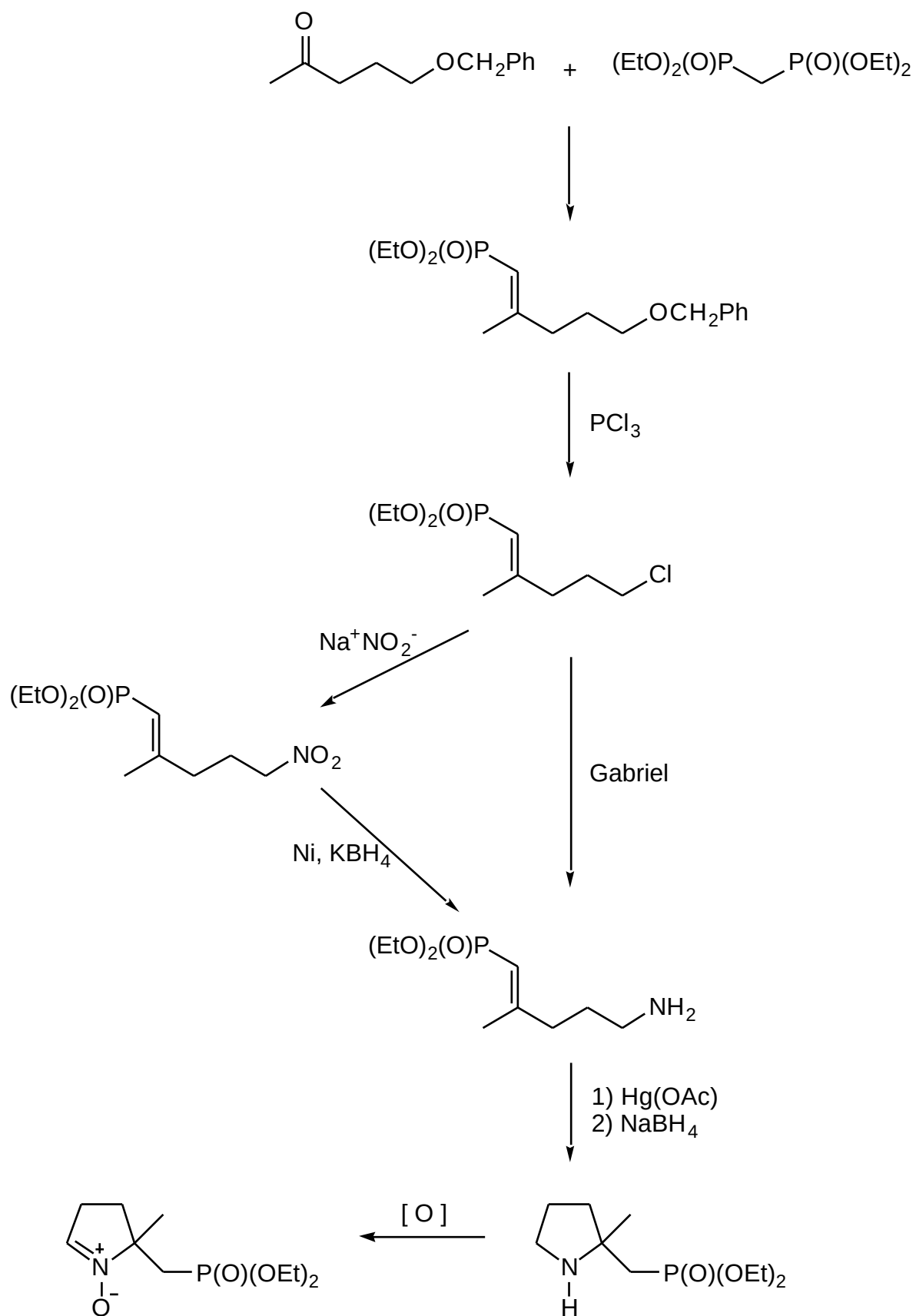


Schéma 6-5 : Voie de synthèse débutée

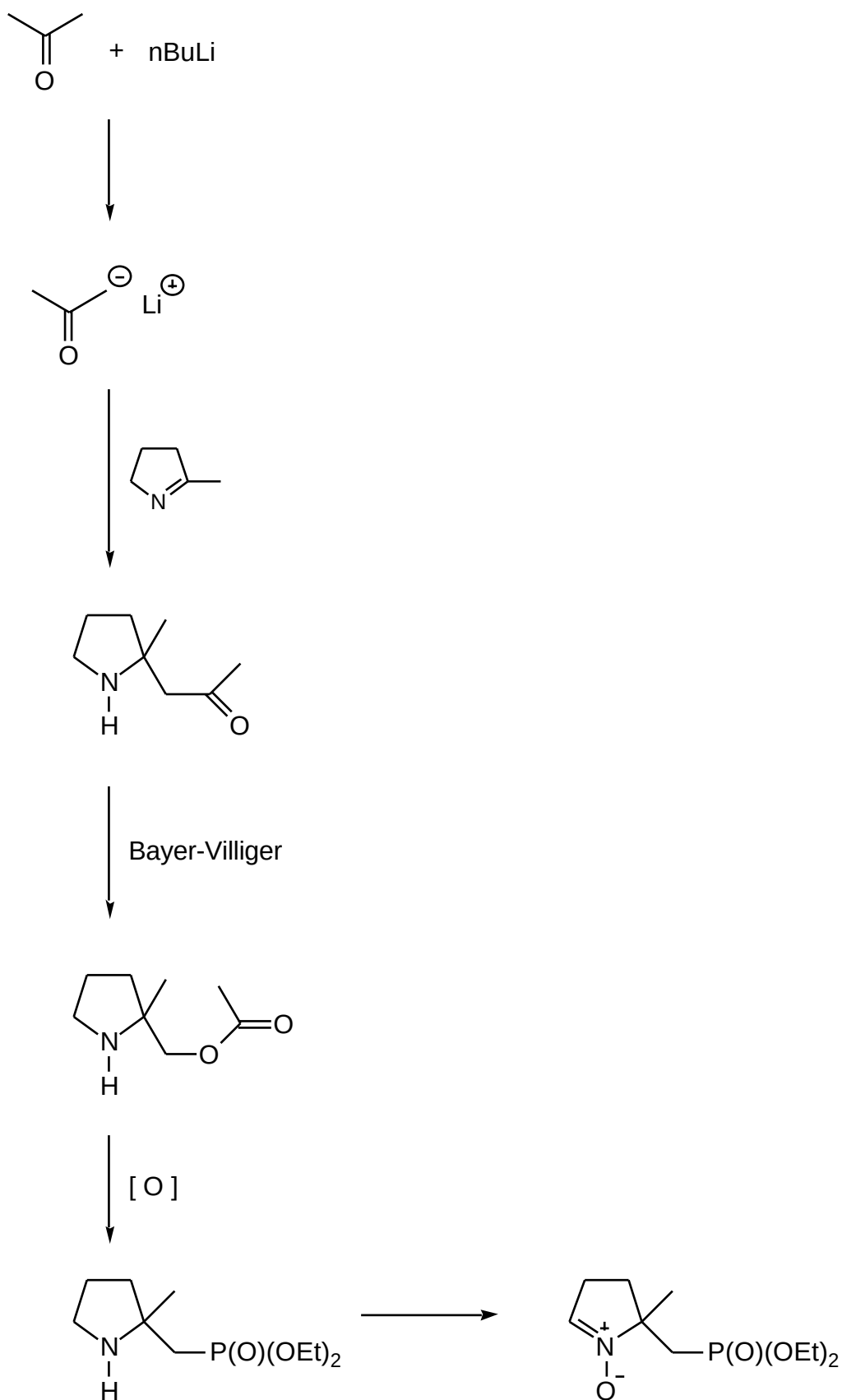


Schéma 6-6 : Voie de synthèse débutée

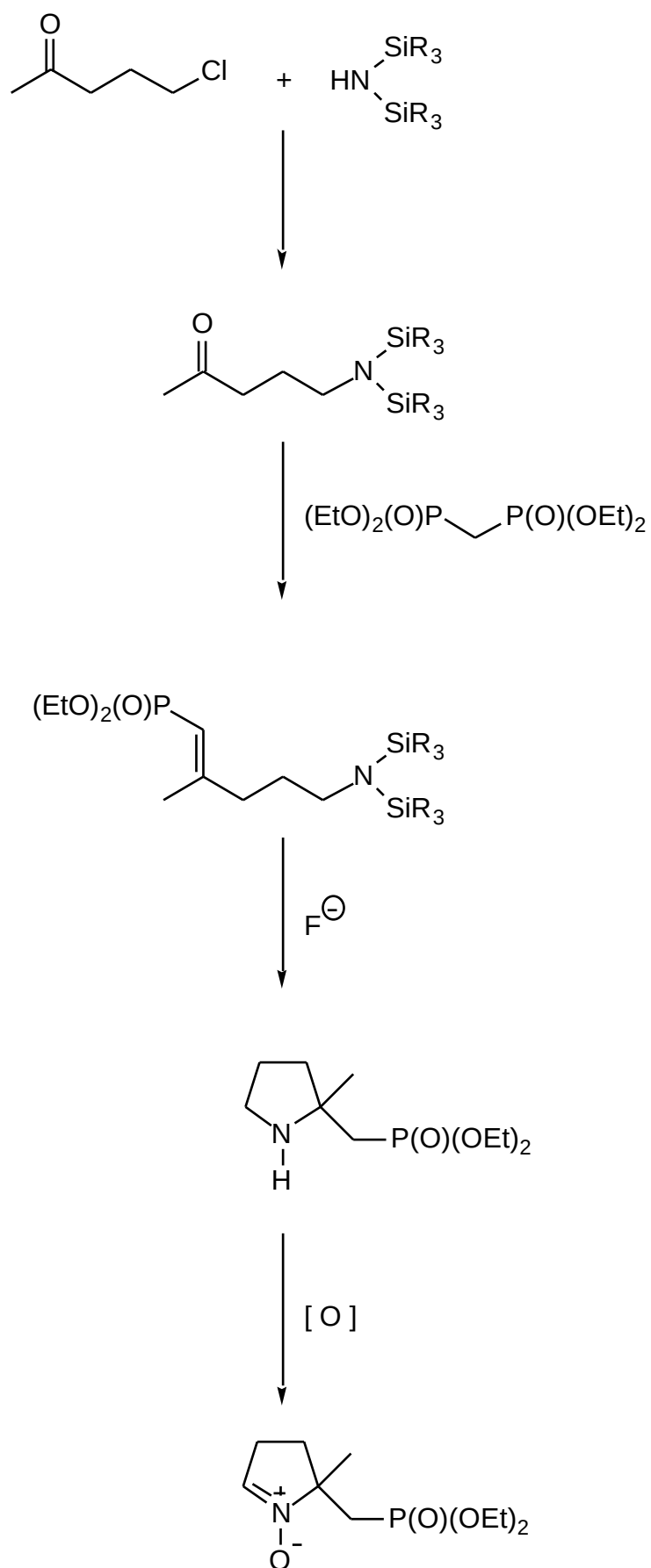


Schéma 6-7 : Voie de synthèse débutée

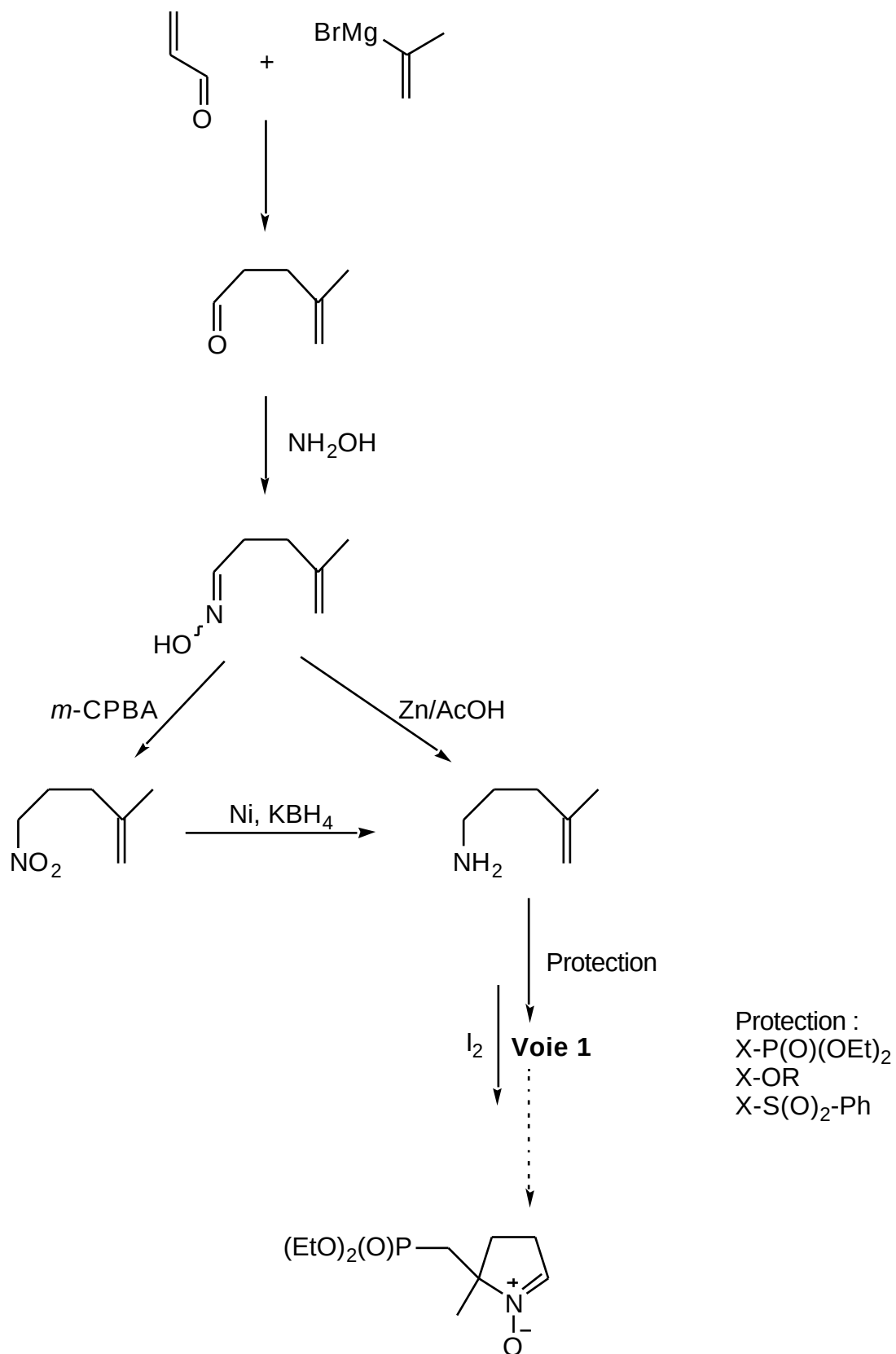


Schéma 6-8 : Voie de synthèse débutée

Dans cette partie, nous donnons des voies de synthèse envisagées qui n'ont pas été débuté, mais dont l'étude bibliographique fut réalisée.

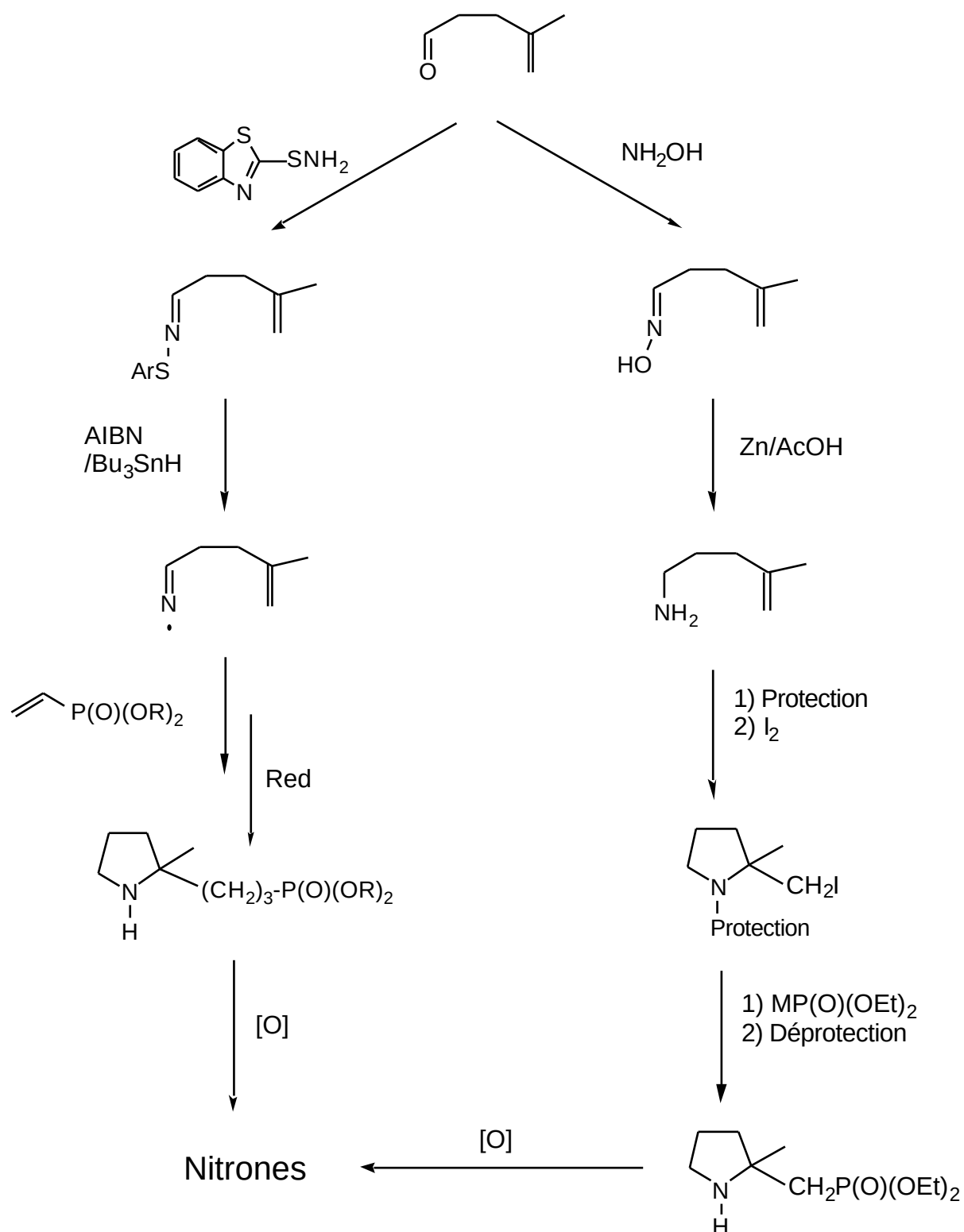


Schéma 6-9 : Autres schémas de synthèse

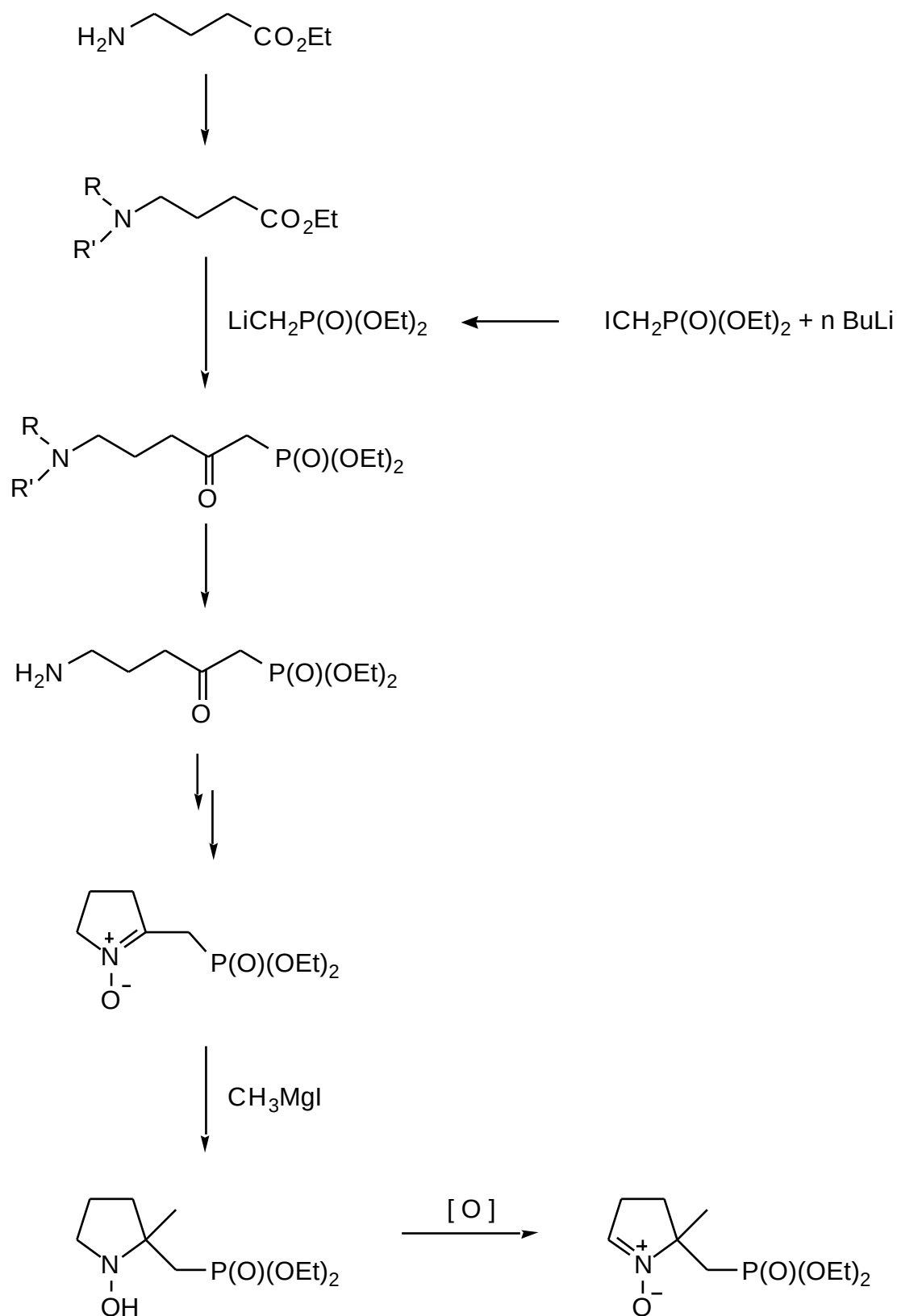


Schéma 6-10 : Voie de synthèse envisagée

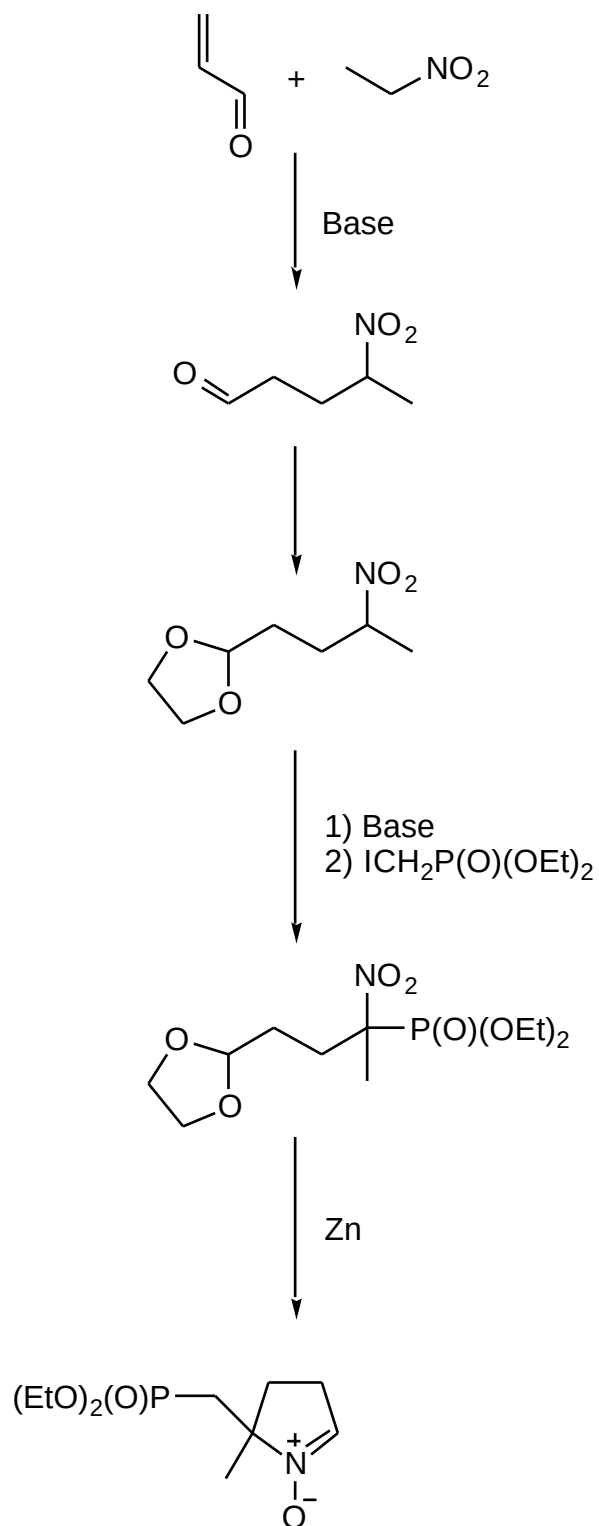
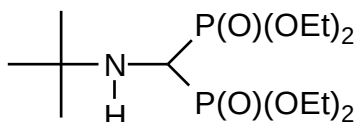


Schéma 6-11 : Voie de synthèse envisagée

6.3.SYNTHESE DE 4

6.3.1.Synthèse du *N*-*tertiobutyl* aminométhylène bisphosphonate de tétraéthyle 95³



On place dans un ballon bicol de 250 ml le phosphite de triéthyle (23,0 g; 0,14 mol) et la *N*-*tertiobutyl* formamide (7,5 g; 73 mmol). Les composés sont mélangés à température ambiante pendant quelques minutes. On met en place un bain de glace avec sel et on additionne, à -5 °C, 23,0 g de POCl₃ (0,15 mol). L'addition dure 1 heure. Puis la réaction est laissée sous agitation à température ambiante pendant 5 heures. La solution se colore progressivement en orange. Le mélange brut est alors versé dans un b cher contenant 150,0 g de glace et 150 ml de solution ammoniacale à 32 %. La phase aqueuse est extraite avec 2 fois 150 ml de dichlorométhane. On rajoute alors 100 ml d'eau puis, goutte à goutte, une solution d'acide chlorhydrique à 37 % jusqu'à atteindre pH 1. Après extraction avec 4 fois 20 ml de dichlorométhane, on récupère la phase aqueuse à laquelle on additionne du NaHCO₃ jusqu'à pH 10. Après extraction à l'éther diéthylique, séchage sur Na₂SO₄ et évaporation du solvant, on obtient 9,6 g (rendement 56 %) de composé 95 sous la forme d'une huile jaunâtre.

RMN

¹H (200 MHz; CDCl₃) :   1,12 (s, 9H, CH₃-C); 1,35 (t, 12H, J_{H-H} = 6,0, CH₃-CH₂); 2,77 (m, 1H, CH-P), 4,1-4,3 (m, 8H, CH₂) ppm.

¹³C (50 MHz; CDCl₃) :   16,1 (m, CH₃-CH₂); 29,2 (CH₃-C); 48,9 (t, J_{C-P} = 148,5, CH-P); 51,7 (t, J_{C-P} = 10,5, C-N); 62,5 (d, J_{C-P} = 4,0, CH₂) ; 62,6 (d, J_{C-P} = 3,5, CH₂) ; 63,1 (d, J_{C-P} = 3,2); 63,2 (d, J_{C-P} = 3,9) ppm.

³¹P (40 MHz; CDCl₃) :   20,0 ppm.

Analyse élémentaire pour C₁₃H₃₁NO₆P₂

	C	H	N
Calc. (%)	43,45	8,70	3,90
Exp. (%)	43,12	8,86	3,58

6.3.2. Proposition de mécanisme de la réaction de gem diphosphorylation - Exemple appliqué à la synthèse des composés cycliques

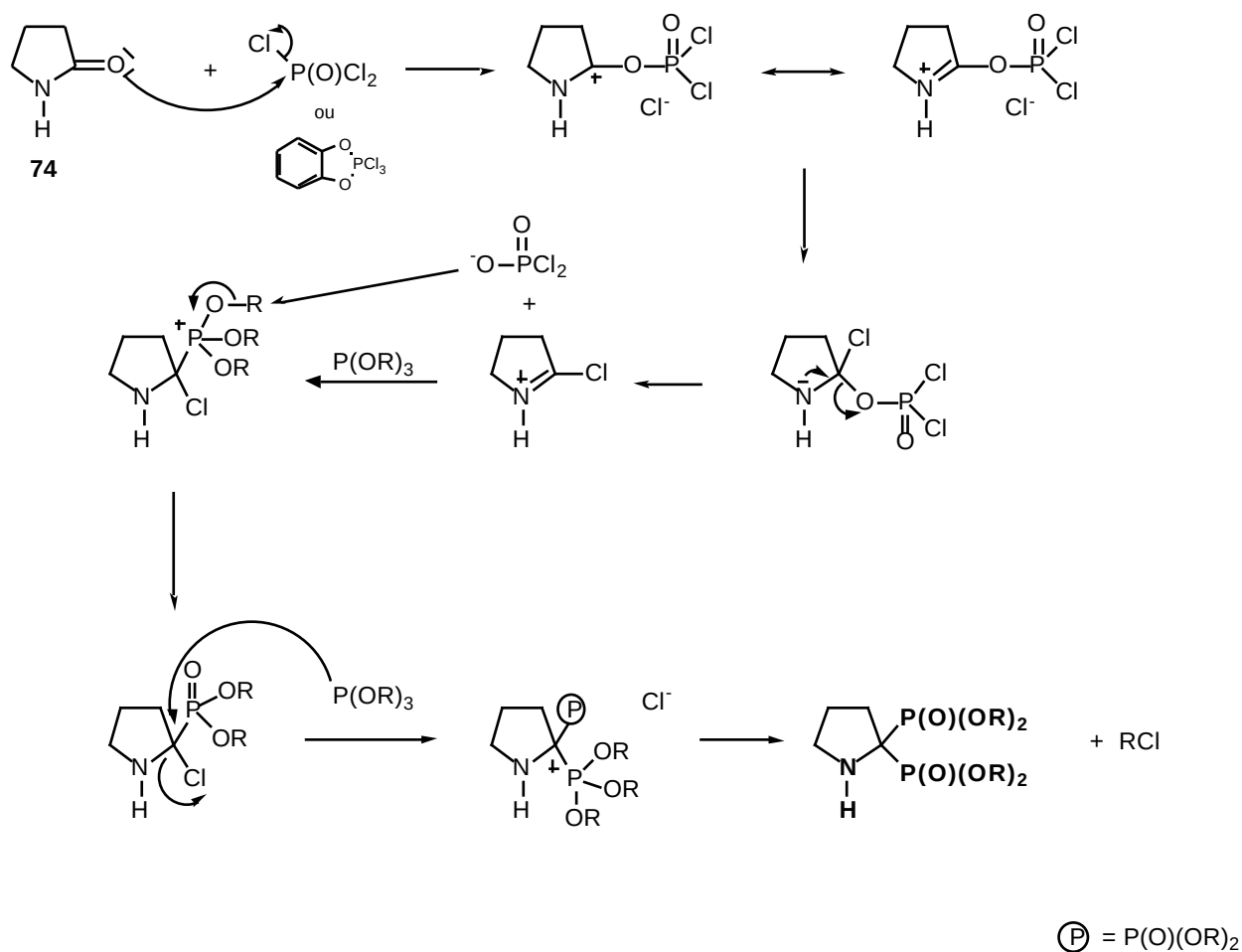


Schéma 6-12 : Proposition de mécanisme de la réaction de gem diphosphorylation

6.4. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- (1) Fontecave, M.; Pierre, J. L. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1991**, 128, 505-520.
- (2) Chanon, M.; Julliard, M.; Santamaria, J.; Chanon, F. *New J. Chem.* **1992**, 16, 169-201.
- (3) Grimaldi, S., Nitroxyde β -phosphorylés - Application a la polymérisation, Thèse de Chimie Organique, Aix Marseille III, **1997**.

6.5. TABLES ET SOMMAIRE

6.5.1. Table des équations

Equation 3-1 : Définition des moindres carrés linéaires	158
Equation 3-2 : Condition lors d'une optimisation à deux paramètres	158
Equation 3-3 : Exemple de relation entre concentrations et temps	159
Equation 3-4 : Principe d'obtention de courbe calculée	159
Equation 3-5 : Résolution pratique	159
Equation 3-6 : Equation expérimentale	160
Equation 3-7 : Définition de la fonction des moindres carrés	160
Equation 3-8 : Ecart type	160
Equation 3-9 : Ecart type sur un paramètre	160
Equation 3-10 : Erreur sur un paramètre	161

6.5.2. Table des figures

Figure 3-1 : Spectre RPE de DMPO-OH	146
Figure 3-2 : Spectre RPE de DMPO-OOH	146
Figure 3-3 : Spectre RPE de ESP-OH (Tampon phosphate pH 5,8)	162
Figure 3-4 : Spectre RPE de ESP-OOH (Tampon phosphate pH 6,0)	163
Figure 3-5 : Spectre RPE de ESP-CH ₃ (Tampon phosphate pH 5,8)	164
Figure 3-6 : Spectre RPE de ESP-CO ₂ ⁻ (Tampon phosphate pH 5,8)	164
Figure 3-7 : Spectre RPE de ESP-SG (Tampon phosphate pH 7,4)	165
Figure 3-8 : Spectre RPE de ESP-OOtBu (Eau 30%)	166
Figure 3-9 : Spectre RPE de l'adduit DPBO-OH obtenu par réduction de DPBO-OOH	170
Figure 3-10 : Spectre RPE de DPBO-OOH par photolyse de H ₂ O ₂ 30 %	171
Figure 3-11 : Spectre RPE obtenu lors de la production de l'adduit DPBO-OOH par	171
Figure 3-12 : Spectre RPE de l'adduit DPBO-OOH dans le DMF	172
Figure 3-13 : Spectre RPE de l'adduit DPBO-CH ₃ (Tampon phosphate pH 5,8)	173
Figure 3-14 : Spectre RPE de l'adduit DPBO-CO ₂ ⁻ (Tampon phosphate pH 5,8)	174
Figure 3-15 : Spectre du radical DPBO-SG (Tampon phosphate pH 5,8)	175
Figure 3-16: Courbe de décroissance de DPBO-OOH dans la pyridine	176
Figure 3-17 : Courbe de décroissance de l'adduit DPBO-SG (Tampon phosphate pH 7,4)	176
Figure 3-18 : Spectre RPE de l'adduit EMPO-OH (Tampon phosphate pH 5,6)	179
Figure 3-19 : Spectre RPE de l'adduit EMPO-OOH (Tampon phosphate pH 5,6)	180
Figure 3-20 : Spectre RPE de EMPO-CH ₃ (Tampon phosphate pH 5,6)	181

Figure 3-21 : Spectre RPE de l'adduit EMPO-CO ₂ ⁻ (Tampon phosphate pH 7,0)	182
Figure 3-22 : Spectre de l'adduit EMPO-SG (Tampon phosphate pH 7,0)	183
Figure 3-23 : Spectre RPE de l'adduit EMPO-OOtBu dans l'hydroperoxyde de tertiobutyle 70 % dans l'eau	183
Figure 3-24 : Spectre RPE de l'adduit EMPO-SO ₃ ⁻ (Tampon phosphate pH 7,0)	184
Figure 3-25 : Courbe de décroissance de EMPO-OOH (Tampon phosphate pH 5,6)	186
Figure 3-26 : Spectre RPE de 70NO dans le dichlorométhane	187
Figure 3-27 : Spectre RPE de 70NO dans le benzène	189
Figure 3-28 : Spectre RPE de 70NO dans l'eau	190
Figure 3-29 : Spectre RPE de 90NO dans le dichlorométhane (25°C)	191
Figure 3-30 : Spectre RPE de 90NO dans le benzène (25°C)	191
Figure 3-31 : Spectre RPE du radical 73NO à pH 13 (NaOH / H ₂ O)	193
Figure 5-1 : Dessin ORTEP de 73	223

6.5.3. Table des schémas

Schéma 0-1 : Principe du spin-trapping	8
Schéma 1-1 : Réduction de l'oxygène	16
Schéma 1-2 : Dismutation du radical	18
Schéma 1-3 : Dismutation du radical anion	19
Schéma 1-4 : Réaction de formation	19
Schéma 1-5 : Cycle d'Haber-Weiss	20
Schéma 1-6 : Fonctionnement de cellule normale	20
Schéma 1-7 : Production de superoxyde par la XO	21
Schéma 1-8 : Mécanisme proposé pour	22
Schéma 1-9 : Résumé Ischémie - Reperfusion	23
Schéma 1-10 : Décomposition de	25
Schéma 1-11 : Réduction de l'eau	25
Schéma 1-12 : Réaction de la vitamine C avec	26
Schéma 1-13 : Différents tocophérols ³²	27
Schéma 1-14 : Réactivité des tocophérols ³²	27
Schéma 1-15 : Régénération de la vitamine E ⁴⁸	27
Schéma 1-16 : Peroxydation lipidique	29
Schéma 1-17 : Cycle d'"Haber-Weiss" sur lipide	29
Schéma 1-18 : Dimérisation d'un nitroxyde	35
Schéma 1-19 : Formes mésomères des nitroxydes	35
Schéma 1-20 : Réaction de dismutation des nitroxydes	36
Schéma 1-21 : Schéma du principe de piégeage de spin	36
Schéma 1-22 : Piégeage avec un nitroso	37
Schéma 2-1 : Synthèse de laDMPO	45
Schéma 2-2 : Synthèse de la PPN	45

Schéma 2-3 : Oxydation d'hydroxylamine	46
Schéma 2-4 : N-alkylation d'oxime	47
Schéma 2-5 : Réaction de Kröhnke	47
Schéma 2-6 : Oxydation d'imine	48
Schéma 2-7 : Schéma rétrosynthétique du 2-(diéthoxyphosphorylméthyl)-	50
Schéma 2-8 : Addition du 3-bromo-2-méthylprop-1-ène magnésium sur l'oxyde d'éthylène	51
Schéma 2-9 : Réduction du 4-méthylpent-4-énoate d'éthyle	51
Schéma 2-10 : Réaction de Wittig	51
Schéma 2-11 : Réduction de l'hydropyrane	52
Schéma 2-12 : Réaction de Mitsunobu modifiée	52
Schéma 2-13 : Mécanisme de la réaction de Mitsunobu	53
Schéma 2-14 : Schéma général de cyclisation d'amine	53
Schéma 2-15 : Protection par méthoxycarbonyle	54
Schéma 2-16 : Protection sous forme de carbamate de benzyle	55
Schéma 2-17 : Déprotection d'amine en milieu acide	55
Schéma 2-18 : Déprotection d'amine par hydrogénation catalytique	55
Schéma 2-19 : Protection par le groupement tosyloxy	56
Schéma 2-20 : Hydrolyse des fonctions ester de	56
Schéma 2-21 : Hydrolyse des fonctions ester de	57
Schéma 2-22 : Cyclisation des δ -alcénylamines	57
Schéma 2-23 : Cyclisation de N-alkoxyamines	58
Schéma 2-24 : Cyclisation de carbamates	58
Schéma 2-25 : Cyclisation de tosylates	58
Schéma 2-26 : Amido-mercuration	59
Schéma 2-27 : Réaction d'Arbuzov	59
Schéma 2-28 : Mécanisme de la réaction d'Arbuzov	59
Schéma 2-29 : Réaction de Michaelis-Becker	60
Schéma 2-30 : Oxydation par l'eau oxygénée	60
Schéma 2-31 : Mécanisme d'oxydation par l'eau oxygénée	61
Schéma 2-32 : Oxydation par le m-CPBA	61
Schéma 2-33 : Réaction entre une nitroène et un organomagnésien	62
Schéma 2-34 : Réaction entre une nitroène et un organolithien	62
Schéma 2-35 : Réaction de Reformatsky	63
Schéma 2-36 : Réaction entre une imine et un organolithien	63
Schéma 2-37 : Addition d'un radical, généré par le	63
Schéma 2-38 : Réaction intermoléculaire d'un	64
Schéma 2-39 : Schéma de synthèse via la réduction d'un groupement nitro	65
Schéma 2-40 : Synthèse du 2-nitropropylphosphonate de diéthyle	65
Schéma 2-41 : Réaction de Zön	65
Schéma 2-42 : Addition de Michael	66
Schéma 2-43 : Réduction cyclisante par le zinc	67
Schéma 2-44 : Schéma de synthèse de la voie n°1	68

Schéma 2-45 : Addition du magnésien du 3-bromo-2-méthylprop-1-ène sur l'oxyde d'éthylène	69
Schéma 2-46 : Réaction de Wittig	69
Schéma 2-47 : Préparation du libérable	70
Schéma 2-48 : Hydrazynolyse	70
Schéma 2-49 : Protection de 23	71
Schéma 2-50 : Cyclisation à l'iode de 18	71
Schéma 2-51 : Réaction d'Arbuzov sur 21	72
Schéma 2-52 : Etape clef de la voie n°2'	73
Schéma 2-53 : Réaction de Reformatsky	73
Schéma 2-54 : Réaction parasite lors de la réaction radicalaire	74
Schéma 2-55 : Synthèse du 2-nitropropylphosphonate de diéthyle 29	74
Schéma 2-56 : Possibilités d'arrachement de protons dans 28	76
Schéma 2-57 : Schéma rétrosynthétique du	77
Schéma 2-58 : Réarrangement de Beckmann en milieu acide	78
Schéma 2-59 : Transposition de Beckmann par voie photochimique	79
Schéma 2-60 : Produits de la réaction de Beckmann	79
Schéma 2-61 : Extension de la réaction de Yokomatsu	79
Schéma 2-62 : Autre réaction de Yokomatsu	80
Schéma 2-63 : Principe du brevet de Zilch	81
Schéma 2-64 : Hydrolyse de phosphonate	81
Schéma 2-65 : Estérification par des oxiranes	82
Schéma 2-66 : Synthèse de 4 via la réaction de Beckmann (Voie n°1)	83
Schéma 2-67 : Synthèse de l'oxyme de la cyclobutanone 71	83
Schéma 2-68 : Réaction de Beckmann selon Yokomatsu	84
Schéma 2-69 : Synthèse de 4 via l'acide (pyrrolidine-2,2-diyl)	85
Schéma 2-70 : Synthèse de l'acide (pyrrolidine-2,2-diyl)bisphosphonique 73	85
Schéma 2-71 : Utilisation de phosphite de diéthyle et	86
Schéma 2-72 : Diverses molécules gem-diphosphorées	87
Schéma 2-73 : Découpage des atomes de carbone dans 70 et 90	88
Schéma 2-74 : Oxydation des nitrones par un periodate	89
Schéma 2-75 : Oxydation des nitrones par l'acide métachloroperbenzoïque	89
Schéma 2-76 : Réaction des dérivés nitroso avec la lumière	89
Schéma 2-77 : Synthèse du DMD 102	89
Schéma 2-78 : Oxydation de 70 par le DMD	90
Schéma 2-79 : Réaction de Brik	90
Schéma 2-80 : Schéma rétrosynthétique faisant appel à des réactions classiques (Voie n°1)	92
Schéma 2-81 : Schéma rétrosynthétique avec introduction	93
Schéma 2-82 : Réaction de Reuss	93
Schéma 2-83 : Bromation via un acétate d'énol	94
Schéma 2-84 : Bromation par l'acide de Meldrum	94
Schéma 2-85 : Formule générale des vinylphosphonates	98
Schéma 2-86 : Synthèse des vinylphosphonates de dialkyle	98
Schéma 2-87 : Synthèse des vinylphosphonates de dialkyle	99

Schéma 2-88 : Synthèse des vinylphosphonates de dialkyle	99
Schéma 2-89 : Réduction de phosphonate par l'hydrure de lithium-aluminium	100
Schéma 2-90 : Réduction de dérivés pentavalents du phosphore	100
Schéma 2-91 : Réduction d'un ester en aldéhyde	101
Schéma 2-92 : Réduction d'ester par LTDEA	101
Schéma 2-93 : Synthèse du STDEA	102
Schéma 2-94 : Réduction d'ester par le DIBAL-H	102
Schéma 2-95 : Réduction par le Red-Al	103
Schéma 2-96 : Synthèse de 5 voie n°1 chemin A	104
Schéma 2-97 : Synthèse de 5 voie n°1 chemin B	105
Schéma 2-98: Synthèse 5 par la voie n°2	107
Schéma 2-99 : Réduction par NaAlH_4	108
Schéma 2-100 : Rétrosynthèse de 5 passant	109
Schéma 2-101 : Schéma rétrosynthétique par addition d'un d'un organomagnésien	110
Schéma 2-102 : Schéma rétrosynthétique par réactions classiques	110
Schéma 2-103 : Addition d'organomagnésien sur la DMPO	111
Schéma 2-104 : Via une dicétolactone	112
Schéma 2-105 : Utilisation d'une méthylcétone	112
Schéma 2-106 : Elimination d'ammonium activée par microondes	113
Schéma 2-107 : Bilan de la réaction d'organosélénures	113
Schéma 2-108 : Différentes façons d'introduire le sélénium	114
Schéma 2-109 : Autre façon d'introduire le sélénium	114
Schéma 2-110 : Syn-élimination du groupement sélénié	114
Schéma 2-111 : Via vinylogue d'énollactone	115
Schéma 2-112 : Via vinylogue d'énollactone	115
Schéma 2-113 : Via une β -aminocétone	116
Schéma 2-114 : Réaction de Mannich	116
Schéma 2-115 : Réaction de Zòn	117
Schéma 2-116 : Schéma de synthèse de 6	119
Schéma 2-117 : Schéma de synthèse de 6	120
Schéma 2-118 : Obtention d'une amine libre	121
Schéma 2-119 : Phénylvinylcétone à partir de 162	121
Schéma 2-120 : Première étape de la réaction de Zòn	122
Schéma 2-121 : Addition de Michael	122
Schéma 2-122 : Schéma rétrosynthétique de l'EMPO 7	124
Schéma 3-1 : Principe du spin-trapping	135
Schéma 3-2 : Nomenclature des nitroxydes	136
Schéma 3-3 : Réaction de piégeage entre un radical $\text{R}^\bullet$	137
Schéma 3-4 : Réduction d'un nitroxyde par le glutathion	137
Schéma 3-5 : Pièges autres que dérivés nitroso et nitrones	138
Schéma 3-6 : Exemple de piégeage (radical	138
Schéma 3-7 : Quelques pièges de type nitroso	139

Schéma 3-8 : Deux sites de piégeage pour le 2,4,6-tri- <i>t</i> -butylnitrosobenzène	140
Schéma 3-9 : Réactions parasites des dérivés nitroso	140
Schéma 3-10 : Equilibre monomère-dimère	141
Schéma 3-11 : Dérivés nitroso solubles dans l'eau	141
Schéma 3-12 : Décomposition de l'adduit tertiobutoxyle 186	142
Schéma 3-13 : Formule générale des nitrones	142
Schéma 3-14 : PBN et DMPO	142
Schéma 3-15 : Piégeage de $R^\bullet$ avec la PBN (156) et la DMPO (157)	143
Schéma 3-16 : Dimérisation de la 2,2,5-triméthyl-3,4-dihydro-2H-pyrrole-1-oxyde	144
Schéma 3-17 : Dimérisation de la DMPO	144
Schéma 3-18 : Décomposition de l'adduit PBN-OH	145
Schéma 3-19 : Autres nitrones cycliques synthétisées	147
Schéma 3-20 : Décomposition de l'adduit DMPO-OOH	147
Schéma 3-21 : Réaction de Fenton	148
Schéma 3-22 : Cycle d'Haber-Weiss	149
Schéma 3-23 : Photolyse de l'eau oxygénée	149
Schéma 3-24 : Augmentation de la fabrication de $HO^\bullet$	150
Schéma 3-25 : Chlorhydrate de 2,2'-azobis(2-amidinopropane) 206	150
Schéma 3-26 : Production du radical hydroxyle	150
Schéma 3-27 : Production de radical hydroxyle via la phénothiazine	151
Schéma 3-28 : Equilibre acido-basique du superoxyde ^{33,57,60}	151
Schéma 3-29 : EDTA et DTPA	152
Schéma 3-30 : Réaction des flavines avec le dioxygène	152
Schéma 3-31 : Photolyse de l'eau oxygénée à 30 %	153
Schéma 3-32 : Production du superoxyde par	153
Schéma 3-33 : Production du $CH_3^\bullet$ via $HO^\bullet$ ²	154
Schéma 3-34 : Production du $CH_3^\bullet$ par photolyse de CH_3I	154
Schéma 3-35 : Production du $CO_2^{\bullet-}$	155
Schéma 3-36 : Obtention de $tBuO^\bullet$ par photolyse de $tBuOOtBu$	155
Schéma 3-37 : Dégradation du radical tertiobutoxyle	155
Schéma 3-38 : Nitrones utilisées lors de nos expériences de spin-trapping	194
Schéma 3-39 : Dismutation du superoxyde	194
Schéma 3-40 : Réduction de l'oxoammonium par la NADH	195
Schéma 4-1 : Nouvelles nitrones en cours de réalisation	203
Schéma 4-2 : Nouveau système de génération du superoxyde	203
Schéma 6-1 : Diagramme de l'oxygène triplet ¹	257
Schéma 6-2 : Représentation simplifiée des orbitales moléculaires de O_2 ²	257
Schéma 6-3 : Diagramme de l'oxygène singulet ¹	258
Schéma 6-4 : Voie de synthèse débutée	259
Schéma 6-5 : Voie de synthèse débutée	260
Schéma 6-6 : Voie de synthèse débutée	261

Schéma 6-7 : Voie de synthèse débutée	262
Schéma 6-8 : Voie de synthèse débutée	263
Schéma 6-9 : Autres schémas de synthèse	264
Schéma 6-10 : Voie de synthèse envisagée	265
Schéma 6-11 : Voie de synthèse envisagée	266
Schéma 6-12 : Proposition de mécanisme de la réaction de gem diphosphorylation	268

6.5.4. Table des tableaux

Tableau 1-1 : Temps de demi-vie calculé	17
Tableau 1-2 : Méthodes de détection du radical superoxyde ^{52,53}	31
Tableau 1-3 : Méthodes de détection du radical hydroxyle	32
Tableau 1-4 : Principales méthodes de dosage des produits	33
Tableau 1-5 : Exemples de temps de demi-vie	34
Tableau 2-1 : Rendement de la réaction (133) (Schéma 2-113)	116
Tableau 2-2 : Rendement de la réaction (135)	118
Tableau 3-1 : Abréviations utilisées	161
Tableau 3-2 : Paramètres des spectres RPE de l'adduit ESP-OH (Tampon phosphate)	162
Tableau 3-3 : Paramètres des spectres RPE de l'adduit ESP-OOH	163
Tableau 3-4 : Paramètres des spectres RPE des adduits ESP-CH ₃ et ESP-CO ₂ ^{-•}	165
Tableau 3-5 : Paramètres des spectres RPE des adduits ESP-SG et ESP-OOtBu	166
Tableau 3-6 : Temps de demi-vie (en secondes) des nitrones 1,2 et 3	167
Tableau 3-7 : Adduit DPBO-OH, paramètres des spectres RPE obtenus par simulation ⁷³	170
Tableau 3-8 : Paramètres des spectres RPE de l'adduit DPBO-OOH	172
Tableau 3-9 : Paramètres des spectres RPE des adduits DPBO-CH ₃ et DPBO-CO ₂ ^{-•}	174
Tableau 3-10 : Paramètres de l'adduit DPBO-SG	175
Tableau 3-11 : Paramètres des spectres RPE de l'adduit EMPO-OH	179
Tableau 3-12 : Paramètres des spectres RPE de l'adduit EMPO-OOH	180
Tableau 3-13 : Paramètres des spectres RPE de l'adduit EMPO-CH ₃ et EMPO-CO ₂ ^{-•}	182
Tableau 3-14 : Paramètres des spectres RPE de différents adduits obtenus avec l'EMPO	184
Tableau 3-15 : Stabilité relative de l'adduit EMPO-OOH	185
Tableau 3-16 : Paramètres des spectres RPE du radical 70NO dans différents solvants	190
Tableau 3-17 : Paramètres des spectres RPE du radical 90NO dans différents solvants (25°C)	192
Tableau 3-18 : Paramètres du spectre RPE de 73NO	193
Tableau 3-19 : Potentiel d'oxydation et vitesse de réduction	195

6.5.5. Table des matières

0. INTRODUCTION	6
1. LES RADICAUX CENTRÉS SUR L'OXYGÈNE.....	14
1.1. INTRODUCTION.....	16
1.2. RADICAUX LIBRES CENTRES SUR L'OXYGENE.....	18
1.2.1. VOIES DE PRODUCTION EN MILIEU BIOLOGIQUE.....	18
1.2.1.1. La chaîne respiratoire mitochondriale.....	18
1.2.1.2. Sources de production in vivo du radical anion superoxyde : rôle de la xanthine oxydase (XO) et de la NADPH oxydase.....	20
1.2.1.3. L'ischémie-reperfusion myocardique.....	21
1.2.2. SYSTÈMES DE PROTECTION PHYSIOLOGIQUE.....	23
1.2.2.1. Protections enzymatiques.....	24
a. Superoxyde Dismutases ^{1,2,20}	24
b. Les catalases (Cat.) ⁴¹	24
c. Glutathion peroxydase (GPX).....	25
1.2.2.2. Protections non enzymatiques ou antioxydantes.....	25
a. Vitamine C ou acide ascorbique.....	26
b. Vitamine E (Tocophérols).....	26
γ. β-Carotène ⁴⁰	27
d. Divers 28	
1.2.3. PEROXYDATION LIPIDIQUE ACCIDENTELLE	28
1.3. DÉTECTION INDIRECTE DES RADICAUX LIBRES	30
1.3.1. RADICAL ANION SUPEROXYDE O ₂ [•]	31
1.3.2. RADICAL HYDROXYLE HO [•]	32
1.3.3. PEROXYDES LIPIDIQUES.....	33
1.4. MÉTHODES DE DÉTECTION PAR RPE.....	34
1.4.1. DIFFÉRENTS RADICAUX	34
1.4.2. SPIN-TRAPPING OU PIÉGEAGE DE SPIN ^{61,68-75}	36
1.5. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	38
2. SYNTHÈSE DES NITRONES	43
2.1. INTRODUCTION.....	45
2.1.1. CONDENSATION D'UNE HYDROXYLAMINE N-MONOSUBSTITUÉE SUR UN DÉRIVÉ CARBONYLÉ.....	45
2.1.2. OXYDATION DES HYDROXYLAMINES N,N-DISUBSTITUÉES.....	46
2.1.3. N-ALKYLATION D'OXIMES	47
2.1.4. RÉACTION DE DÉRIVÉS NITROSO-AROMATIQUES AVEC DES MÉTHYLÈNES ACTIVÉS : RÉACTION DE KRÖHNKE	47
2.1.5. N-OXYDATION D'IMINES	48

2.2. SYNTHÈSE DU 2-(DIETHOXYPHOSPHORYLMETHYL)-2-METHYL-3,4-DIHYDRO-2H-PYRROLE-1-OXYDE (ESPACEUR OU ESP) 3	49
2.2.1. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE DE LA SYNTHÈSE DE 3	49
2.2.1.1. Via la réaction d'Arbuzov (Voie n°1)	51
a. 4-méthylpent-4-én-1-ol 24	51
♦ Par addition du magnésien du 3-bromo-2-méthylprop-1-ène sur l'oxyde d'éthylène ¹⁵	51
♦ Par réduction du 4-méthylpent-4-énoate d'éthyle	51
♦ Via l'action d'un réactif de Wittig sur le 5-hydroxypenta-2-one ¹⁸	51
♦ Par réduction de l'hydropyran	52
b. 4-méthylpent-4-én-1-amine 23	52
c. Protection de la fonction amine	53
♦ Protection sous forme de carbamate	54
* Sous forme de carbamate de méthyle	54
* Sous forme de carbamate de benzyle	54
– déprotection en milieu acide	55
– déprotection par hydrogénation catalytique ²¹	55
♦ Protection sous forme de tosylate ²¹	56
d. Hydrolyse des phosphonates de dialkyle	56
♦ En milieu acide	56
♦ En milieu basique	57
e. Cyclisation des δ -alcénylamines	57
♦ Cyclisation induite par des ions halonium	58
* N-alkoxyamines ³¹	58
* Carbamates ³³	58
* Tosylates ³³	58
♦ Cyclisation induite par les ions mercurinium : amido-mercuration	59
f. Création d'une liaison carbone-phosphore à partir d'un halogénure	59
♦ Réaction d'Arbuzov	59
♦ Réaction de Michaelis-Becker	60
♦ Réaction inverse de Michaelis-Becker	60
g. Oxydation	60
2.2.1.2. Via l'addition d'un organométallique (Voie n°2 et 2')	62
a. Voie 2 (Réaction sur nitrone)	62
b. Voie 2' (Réaction sur imine)	63
2.2.1.3. Via la réduction d'un groupement nitro (Voie n°3)	64
a. Synthèse du 2-nitropropylphosphonate de diéthyle 29 (Schéma 2-39, étapes I et II)	65
b. Synthèse de (4-formyl-2-méthyl-2-nitrobutyl)phosphonate de diéthyle 28 (Schéma 2-39, étape III)	66
c. Synthèse du 2-(diéthoxyphosphorylméthyl)-2-méthyl-3,4-dihydro-2H-pyrrole-1-oxyde 3 (Schéma 2-39, étape IV)	67
2.2.2. RÉSULTATS ET DISCUSSION SUR LA SYNTHÈSE DE 3	68

2.2.2.1.	Via la réaction d'Arbuzov (Voie n°1).....	68
a.	Synthèse du 4-méthylpent-4-én-1-ol 24	69
♦	Addition du magnésien du 3-bromo-2-méthylprop-1-ène sur l'oxyde d'éthylène ¹⁵	69
♦	Par action d'un réactif de Wittig sur le 5-hydroxypentan-2-one.....	69
b.	Synthèse de la 4-méthylpent-4-én-1-amine 23	70
♦	Préparation d'un groupement libérable (Schéma 2-47).....	70
♦	Hydrazynolyse (Schéma 2-48).....	70
c.	Protection de la 4-méthylpent-4-én-1-amine 23	71
d.	Synthèse du <i>N</i> -(2-iodométhyl-2-méthyltétraméthylène)carbamate de benzyle 21	71
e.	Réaction d'Arbuzov.....	71
f.	Conclusion voie n°1.....	72
2.2.2.2.	Via l'addition d'un organométallique (Voie n°2 et 2').....	73
2.2.2.3.	Via la réduction d'un groupement nitro (Voie n°3).....	74
a.	Synthèse du 2-nitropropylphosphonate de diéthyle 29 (Schéma 2-39, étapes I et II).....	74
b.	Synthèse de (4-formyl-2-méthyl-2-nitrobutyl)phosphonate de diéthyle 28 (Schéma 2-39, étape III) 75	
c.	Synthèse du 2-(diéthoxyphosphorylméthyl)-2-méthyl-3,4-dihydro-2 <i>H</i> -pyrrole-1-oxyde 3 (Schéma 2-39, étape IV).....	75
d.	Conclusion voie n°3.....	75
2.2.3.	CONCLUSION SUR LA SYNTHÈSE DU 2-(DIÉTHOXYPHOSPHORYLMÉTHYL)-2-MÉTHYL-3,4-DIHYDRO-2 <i>H</i> -PYRROLE-1-OXYDE 3	75
2.3. SYNTHÈSE DU 5,5-BIS DIÉTHOXYPHOSPHORYL-3,4-DIHYDRO-2H-PYRROLE-1-OXYDE (DPBO) 4.....		77
2.3.1.	ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE DE LA SYNTHÈSE DE 4.....	77
2.3.1.1.	Via le réarrangement de Beckmann (Voie n°1).....	78
a.	Synthèse de la cyclobutanone-oxime 71	78
b.	Réarrangement de Beckmann.....	78
2.3.1.2.	Via l'acide (pyrrolidine-2,2-diyl)bisphosphonique 73 (Voie n°2).....	80
a.	Synthèse de l'acide (pyrrolidin-2,2-diyl)bisphosphonique 100	80
b.	Estérification de l'acide (pyrrolidin-2,2-diyl)bisphosphonique 73	81
2.3.2.	RÉSULTATS ET DISCUSSION SUR LA SYNTHÈSE DE 4.....	83
2.3.2.1.	Via le réarrangement de Beckmann (Voie n°1).....	83
a.	Synthèse de la cyclobutanone-oxime 71	83
b.	Réarrangement de Beckmann.....	84
2.3.2.2.	Via l'acide (pyrrolidine-2,2-diyl) bisphosphonique 73 (Voie n°2).....	85
a.	Synthèse de l'acide (pyrrolidine-2,2-diyl)bisphosphonique 73	85
b.	Estérification de l'acide (pyrrolidine-2,2-diyl)bisphosphonique 73	86
2.3.2.3.	Via la synthèse en une étape de (pyrrolidine-2,2-diyl)bisphosphonate de tétraéthyle 70 (Voie n°3).....	86
a.	Synthèse de (pyrrolidine-2,2-diyl)bisphosphonate de tétraéthyle 70	86
2.3.2.4.	Oxydation du (pyrrolidine-2,2-diyl)bisphosphonate de tétraéthyle 70 - Synthèse du 5,5-bisdiéthoxy phosphoryl-3,4-dihydro-2 <i>H</i> -pyrrole-1-oxyde (DPBO) 4.....	88

2.3.2.5.	Conclusion sur la synthèse de 4.....	91
2.4. SYNTHÈSE DU 2,2-DIMÉTHYL-4-DIÉTHOXYPHOSPHORYL-3,4-DIHYDRO-2H-PYRROLE-1-OXYDE (DOP-PD) 5	91	
2.4.1.	ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE DE LA SYNTHÈSE DE 5.....	91
2.4.1.1.	Via des réactions classiques (Voie n°1).....	93
a.	Synthèse du 4-méthyl-4-nitropentanal 65	93
b.	Synthèse du 2-bromo-4-méthyl-4-nitropentanal 104	93
♦	Synthèse via un éther d'énol silylé ¹⁰⁶	93
♦	Utilisation de résine échangeuse de cations.....	94
♦	Synthèse via un acétate d'énol ¹⁰⁸	94
♦	Utilisation du 5,5-dibromo-2,2-diméthyl-4,6-dioxo-1,3-dioxane ¹⁰⁹	94
♦	Bromation directe.....	95
♦	Synthèse en présence de dioxane.....	95
♦	Synthèse en présence d'acide acétique et d'eau ¹¹²	95
c.	Synthèse du (1-formyl-3-méthyl-3-nitrobutyl) phosphonate de diéthyle 103 par la réaction d'Arbuzov.....	95
d.	Oxydation de 65 en acide 4-méthyl-4-nitropentanoïque 107	95
♦	Oxydation à l'acide nitrique.....	95
♦	Utilisation de l'oxyde d'argent.....	96
♦	Oxydation au permanganate de potassium / acide sulfurique.....	96
♦	Oxydation au permanganate de potassium / acétone / sulfate de magnésium.....	96
♦	Utilisation du N-bromosuccinimide.....	96
♦	Réactif de Jones.....	96
e.	Réduction de 105 en (1-formyl-3-méthyl-3-nitrobutyl) phosphonate de diéthyle 103	97
♦	Utilisation du diborane ¹¹⁹	97
♦	Réduction à l'aide du borohydrure de lithium ¹²⁰	97
♦	Utilisation du triméthoxyborohydrure de sodium [NaBH(OCH ₃) ₃] ¹²¹	97
f.	Cyclisation de (4-méthyl-4-nitro-1-oxopentan-2-yl)phosphonate de diéthyle 103	97
2.4.1.2.	Via l'introduction précoce du groupement phosphoré (Voie n°2).....	98
a.	Synthèse de l'ester carboxylique du vinylphosphonate de dialkyle.....	98
♦	Méthode A 98	
♦	Méthode B 99	
b.	Condensation du carbanion du 2-nitropropane.....	100
c.	Réduction d'un ester en aldéhyde.....	100
♦	Réduction 1 : Arrêt au stade aldéhydique.....	101
♦	Réduction 2 : Réduction complète jusqu'au stade alcool.....	103
d.	Cyclisation de (4-méthyl-4-nitro-1-oxopent-2-yl)phosphonate de diéthyle 103 en 2,2-diméthyl-4-diéthoxyphosphoryl-3,4-dihydro-2H-pyrrole-1-oxyde 5	104
2.4.2.	RÉSULTATS ET DISCUSSION SUR LA SYNTHÈSE DE 5.....	104
2.4.2.1.	Via des réactions classiques (Voie n°1).....	104
a.	Voie n°1 Chemin A.....	104

♦ Synthèse du 4-méthyl-4-nitropentanal 65	105
♦ Synthèse du 2-bromo-4-méthyl-4-nitropentanal 104	105
b. Voie n°1 Chemin B	105
♦ Oxydation du 4-méthyl-4-nitropentanal 65 en acide 4-méthyl-4-nitropentanoïque 107	106
♦ Bromation de l'acide 4-méthyl-4-nitropentanoïque 107	106
c. Conclusion sur la voie n°1	106
2.4.2.2. Via l'introduction précoce du groupement phosphoré (Voie n°2)	106
a. Synthèse du vinylphosphonate de diéthyle 109	107
b. Synthèse du 2-diéthoxyphosphoryl-4-méthyl-4-nitropentanoate d'éthyle 108	107
c. Réduction du 2-diéthoxyphosphoryl-4-méthyl-4-nitropentanoate d'éthyle 108	108
d. Autres voies d'approche	108
e. Conclusion Voie n°2	109
2.4.3. CONCLUSION SUR LA SYNTHÈSE DU 2,2-DIMÉTHYL-4-DIÉTHOXYPHOSPHORYL- 3,4-DIHYDRO-2H-PYRROLE-1-OXYDE 5 (DOP-PD)	109
2.5. SYNTHÈSE DU 2-DIÉTHOXYPHOSPHORYL-2-MÉTHYL-5-PHÉNYL-3,4-DIHYDRO- 2H-PYRROLE-1-OXYDE (DEPMPO-PH) 6	110
2.5.1. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE DE LA SYNTHÈSE DE 6	110
2.5.1.1. Via l'addition d'un organomagnésien (Voie n°1) (Schéma 2-101)	111
2.5.1.2. Via la réduction d'un groupement nitro (Voie n°2) (Schéma 2-102)	111
a. Synthèse de la phénylvinylcétone 138	111
♦ Passage par une dicétolactone	111
♦ Obtention d'une vinylcétone à partir d'un acide carboxylique et de vinylolithium	112
♦ Utilisation de micro-ondes	113
♦ Utilisation d'organosélénures	113
♦ Réaction chélotropique de vinylogue d'énollactone	115
♦ Obtention de la phénylvinylcétone comme sous-produit lors de la synthèse de β -aminocétone 115	
♦ Via une réaction de Mannich et le chlorhydrate de la 3-diméthylamino-1-phénylpropan-1- one 158 116	
* Méthode A ¹⁶⁴ 117	
* Méthode B ¹⁵⁷ 117	
b. Synthèse du 1-nitroéthylphosphonate de diéthyle	117
c. Addition de Michael	118
d. Cyclisation et synthèse de la DEPMPO-Ph 6	118
2.5.2. RÉSULTATS ET DISCUSSION SUR LA SYNTHÈSE DE 6	119
2.5.2.1. Via l'addition d'un organomagnésien (Voie n°1)	119
2.5.2.2. Via la réduction d'un groupement nitro (Voie n°2)	120
a. Synthèse de la phénylvinylcétone 138	120
♦ Méthode A (condition douce) ¹⁶⁴	121
♦ Méthode B (pyrolyse) ¹⁵⁷	121
b. Synthèse du 1-nitroéthylphosphonate de diéthyle 137	122
c. Synthèse du (2-nitro-5-oxo-5-phénylpentan-2-yl)phosphonate de diéthyle 136	122

d. Cyclisation de 136 ³	123
e. Conclusion voie n°2.....	123
2.5.2.3. Conclusion sur la synthèse de 6.....	123
2.6. SYNTHÈSE DU 2-ETHOXYCARBONYL-2-METHYL-3,4-DIHYDRO-2H-PYRROLE-1-OXYDE (EMPO) 7.....	124
2.6.1. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE DE LA SYNTHÈSE DE 7.....	124
2.6.2. RÉSULTATS ET DISCUSSION SUR LA SYNTHÈSE DE 7.....	124
2.6.2.1. Synthèse du 4-formyl-2-méthyl-2-nitrobutanoate d'éthyle 166 ⁶⁶	124
2.6.2.2. Synthèse de l'EMPO 7.....	125
2.6.3. CONCLUSION SUR LA SYNTHÈSE DE 7.....	125
2.7. CONCLUSION SUR LA SYNTHÈSE.....	125
2.8. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	127
<u>3. ETUDES R. P. E.....</u>	<u>133</u>
3.1. INTRODUCTION.....	135
3.1.1. LE PIÉGEAGE DE SPIN (SPIN-TRAPPING).....	135
3.1.1.1. Autres pièges ⁵	137
3.1.1.2. Les dérivés nitroso.....	138
a. Thermolabilité et photosensibilité.....	140
b. Dimérisation.....	141
c. Solubilité dans l'eau.....	141
d. Stabilité des adduits.....	141
3.1.1.3. Les nitrones.....	142
a. Comparaison avec les dérivés nitroso.....	143
♦ Thermosensibilité et photosensibilité.....	143
♦ Dimérisation.....	143
♦ Solubilité dans l'eau.....	145
♦ Stabilité des adduits.....	145
* la PBN et ses homologues.....	145
* la DMPO et ses homologues.....	145
b. Limitations liées à l'emploi des nitrones.....	147
3.1.2. PRODUCTION DE DIVERS RADICAUX.....	148
3.1.2.1. Production de HO [•]	148
a. Réaction de Fenton ^{30,54}	148
b. Cycle d'Haber-Weiss catalysé par le fer ^{56,57}	149
c. Photolyse de l'eau oxygénée à 1 % ^{2,36}	149
d. Systèmes divers.....	149
3.1.2.2. Production du superoxyde O ₂ ^{-•}	151
a. Hypoxanthine-xanthine oxydase ^{33,41}	151
b. Riboflavine ou lumiflavine en présence d'un donneur d'électron ^{29,41}	152
c. Photolyse de l'eau oxygénée à 30 % ²	153
d. Autres systèmes.....	153

3.1.2.3.	Autres radicaux.....	154
a.	Radical méthyle $\text{CH}_3^\bullet$	154
b.	Radical $\text{CO}_2^{\bullet-}$	155
c.	Radical glutathionyle ($\text{GS}^\bullet$).....	155
d.	Radical <i>tert</i> iobutoxyle.....	155
e.	Radical $\text{tBuOO}^\bullet$	156
3.1.3.	LOGICIELS UTILISÉS AU COURS DE NOS TRAVAUX DE THÈSE	156
3.1.3.1.	Logiciel de simulation RPE.....	156
a.	Logiciel EPR du Pr. Duling ^{72,73}	157
b.	Logiciels EPR et RING du Pr. Antal Rockenbauer ⁷⁵	157
3.1.3.2.	Logiciel de cinétique DAPHNIS ⁷⁷	159
a.	Premier temps : obtention d'une courbe calculée à partir d'équations cinétiques.....	159
b.	Second temps : régression.....	160
3.2.	RESULTATS ET DISCUSSION.....	161
3.2.1.	SPIN-TRAPPING AVEC LE 2-(DIÉTHOXYPHOSPHORYLMÉTHYL)-2-MÉTHYL-3,4-DIHYDRO-2H-PYRROLE (ESP) 3.....	161
3.2.1.1.	Piégeage du radical hydroxyle.....	161
3.2.1.2.	Piégeage du superoxyde.....	162
3.2.1.3.	Piégeage du radical méthyle et du radical $\text{CO}_2^{\bullet-}$	163
3.2.1.4.	Autres radicaux.....	165
3.2.1.5.	Cinétiques de décroissance de l'adduit du superoxyde ESP-OOH.....	166
3.2.1.6.	Conclusion sur le spin-trapping avec la nitrone ESP 3.....	167
3.2.2.	SPIN-TRAPPING AVEC LE 2-DIÉTHOXYPHOSPHORYL-2-MÉTHYL-5-PHÉNYL-3,4-DIHYDRO-2H-PYRROLE-1-OXYDE (DEPMPO-PH) 6.....	168
3.2.3.	SPIN-TRAPPING AVEC LE 2,2-BISDIÉTHOXYPHOSPHORYL-3,4-DIHYDRO-2H-PYRROLE-1-OXYDE (DPBO) 4.....	168
3.2.3.1.	Piégeage du radical hydroxyle.....	169
3.2.3.2.	Piégeage du superoxyde.....	170
3.2.3.3.	Piégeage du radical méthyle et du radical $\text{CO}_2^{\bullet-}$	173
3.2.3.4.	Piégeage du radical glutathionyle.....	174
3.2.3.5.	Temps de demi-vie de l'adduit DPBO-OOH.....	175
3.2.3.6.	Conclusion sur le spin-trapping avec la DPBO 4.....	177
3.2.4.	SPIN-TRAPPING AVEC LE 2-ÉTHOXYCARBONYL-2-MÉTHYL-3,4-DIHYDRO-2H-PYRROLE-1-OXYDE (EMPO) 7.....	178
3.2.4.1.	Piégeage du radical hydroxyle.....	178
3.2.4.2.	Piégeage du superoxyde.....	179
3.2.4.3.	Piégeage du radical méthyle et du radical $\text{CO}_2^{\bullet-}$	181
3.2.4.4.	Autres radicaux.....	182
3.2.4.5.	Etude cinétique de la décroissance de l'adduit du superoxyde sur l'EMPO....	184
3.2.4.6.	Conclusion sur le piégeage avec l'EMPO.....	186
3.2.5.	ETUDES RPE SUR LES NITROXYDES DE 70, 73 ET 90.....	186

3.2.5.1.	Etude conformationnelle sur les nitroxydes 70NO et 90NO.....	187
a.	Cas du nitroxyde 70NO	187
b.	Cas du nitroxyde 90NO	188
3.2.5.2.	Etude des effets de solvant sur les spectres RPE de 70NO et 90NO.....	189
3.2.5.3.	Etude du nitroxyde 73NO.....	192
3.2.5.4.	Conclusion sur les différentes études portant sur les nitroxydes 70NO, 73NO et 90NO	193
3.3.	CONCLUSION SUR LE SPIN-TRAPPING.....	194
3.3.1.	PIÉGEAGE DU SUPEROXYDE.....	194
3.3.2.	PIÉGEAGE D'AUTRES RADICAUX	196
3.4.	RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	197
4.	CONCLUSION.....	201
5.	PARTIE EXPERIMENTALE.....	207
5.1.	INTRODUCTION.....	209
5.2.	SYNTHÈSE DU 2-(DIETHOXYPHOSPHORYLMETHYL)-2-METHYL-3,4-DIHYDRO-2H-PYRROLE-1-OXYDE (ESP) 3.....	210
5.2.1.	VIA LA RÉACTION D'ARBUZOV (VOIE N°1).....	210
5.2.1.1.	Synthèse du 4-méthylpent-4-én-1-ol 24 ¹	210
5.2.1.2.	Synthèse de la 4-méthylpent-4-én-1-amine 23 ²	211
5.2.1.3.	Synthèse du N-(4-méthylpent-4-ényl) carbamate de benzyle 22.....	212
5.2.1.4.	Cyclisation du N-(4-méthylpent-4-ényl) carbamate de benzyle, obtention du N-(2-iodométhyl-2-méthyl tétraméthylène)carbamate de benzyle 21 ³	213
5.2.2.	VIA LA RÉDUCTION D'UN GROUPEMENT NITRO (VOIE N°3).....	214
5.2.2.1.	Synthèse du (2-hydroxyiminopropan-1-yl) phosphonate de diéthyle 63 ⁴	214
5.2.2.2.	Synthèse du 2-aminopropylphosphonate de diéthyle 31 ⁵	215
5.2.2.3.	Synthèse du 2-nitropropylphosphonate de diéthyle 29 ⁵	216
5.2.2.4.	Synthèse du (4-formyl-2-méthyl-2-nitrobutyl)phosphonate de diéthyle 28.....	217
5.2.2.5.	Synthèse du 2-(diéthoxyphosphorylméthyl)-2-méthyl-3,4-dihydro-2H-pyrrole-1-oxyde (ESP) 3 ⁶	218
5.3.	SYNTHÈSE DU 2,2-BISDIÉTHOXYPHOSPHORYL-3,4-DIHYDRO-2H-PYRROLE-1-OXYDE (DPBO) 4.....	219
5.3.1.	VIA LE RÉARRANGEMENT DE BECKMANN (VOIE N°1).....	219
5.3.1.1.	Synthèse de la cyclobutanone-oxime 71 ^{7,8}	219
5.3.2.	VIA L'ACIDE (PYRROLIDINE-2,2-DIYL)BISPHOSPHONIQUE 73 (VOIE N°2).....	220
5.3.2.1.	Synthèse de l'acide (pyrrolidine-2,2-diyl)bisphosphonique 73 ⁹	220
5.3.3.	VIA LA SYNTHÈSE EN UNE ÉTAPE (VOIE N°3).....	224
5.3.3.1.	Synthèse des (pyrrolidine-2,2-diyl)bisphosphonates de tétraalkyle 70, 90, 91 et 93	224
5.3.3.2.	Synthèse du 2,2-bisdiéthoxyphosphoryl-3,4-dihydro-2H-pyrrole-1-oxyde (DPBO) 4	228

5.4. SYNTHÈSE DU 2,2-MÉTHYL-4-DIÉTHOXYPHOSPHORYL-3,4-DIHYDRO-2H-PYRROLE-1-OXYDE (DOP-PD) 5	230
5.4.1. VIA DES RÉACTIONS CLASSIQUES (VOIE N°1).....	230
5.4.1.1. Synthèse du 4-méthyl-4-nitropentanal 65.....	230
5.4.1.2. Synthèse de l'acide 4-méthyl-4-nitropentanoïque 107.....	231
5.4.2. VIA L'INTRODUCTION PRÉCOCE DU GROUPEMENT PHOSPHORÉ (VOIE N°2).....	232
5.4.2.1. Synthèse du 2-diéthoxyphosphorylprop-2-énoate d'éthyle 109 ¹²	232
5.4.2.2. Synthèse du 2-diéthoxyphosphoryl-4-méthyl-4-nitropentanoate d'éthyle 108 ¹³ 233	
5.4.2.3. Synthèse du 2,2-diéthoxyéthylphosphonate de diéthyle ¹⁴	234
5.4.2.4. Synthèse du formylphosphonate de diéthyle ¹⁴	235
5.4.2.5. Synthèse du 2-bromovalérate d'éthyle.....	236
5.4.2.6. Synthèse du 2-diéthoxyphosphorylpentanoate d'éthyle 131 ¹⁵	237
5.5. SYNTHÈSE DU 2-DIÉTHOXYPHOSPHORYL-2-MÉTHYL-5-PHÉNYL-3,4-DIHYDRO-2H-PYRROLE-1-OXYDE (DEPMPO-PH) 6	238
5.5.1. VIA L'ADDITION D'UN ORGANOMAGNÉSIEN (VOIE N°1).....	238
5.5.1.1. Synthèse de la DMPO-Ph ^{16,17}	238
5.5.2. VIA LA RÉDUCTION D'UN GROUPEMENT NITRO (VOIE N°2).....	239
5.5.2.1. Synthèse du 1-phénylprop-2-én-1-ol.....	239
5.5.2.2. Synthèse du chlorhydrate de la 3-diméthylamino-1-phénylpropan-1-one 158 ¹⁸ 240	
5.5.2.3. Synthèse de la 3-diméthylamino-1-phénylpropan-1-one 162 ¹⁹	241
5.5.2.4. Synthèse de la phénylvinylcétone 138 ¹⁸	242
5.5.2.5. Synthèse du (1-hydroxyiminoéthano-1-yl)phosphonate de diéthyle 161 ²⁰ ...	242
5.5.2.6. Synthèse du 1-nitroéthylphosphonate de diéthyle 137 ²⁰	243
5.5.2.7. Synthèse du (2-nitro-5-oxo-5-phénylpentan-2-yl)phosphonate de diéthyle 136 ¹³ 244	
5.5.2.8. Synthèse du 2-diéthoxyphosphoryl-2-méthyl-5-phényl-3,4-dihydro- 2H- pyrrole-1-oxyde (DEPMPO-Ph) 6 ⁶	245
5.6. SYNTHÈSE DU 2-ÉTHOXYCARBONYL-2-MÉTHYL-3,4-DIHYDRO-2H-PYRROLE-1-OXYDE (EMPO) 7	246
5.6.1. SYNTHÈSE DU 4-FORMYL-2-MÉTHYL-2-NITROBUTANOATE D'ÉTHYLE 166 ¹³ ...	246
5.6.2. SYNTHÈSE DU 2-ÉTHOXYCARBONYL-2-MÉTHYL-3,4-DIHYDRO-2H-PYRROLE-1-OXYDE (EMPO) 7 ²¹	247
5.7. R.P.E. - SPIN-TRAPPING.....	248
5.7.1. RADICAL HYDROXYLE HO [•]	248
5.7.1.1. Réaction de Fenton.....	248
5.7.1.2. Photolyse de l'eau oxygénée à 1 %.....	249
5.7.1.3. Addition nucléophile de l'eau.....	249
5.7.2. RADICAL ANION SUPEROXYDE O ₂ ^{-•}	249

5.7.2.1.	Hypoxanthine-xanthine oxydase.....	249
5.7.2.2.	Flavine en présence d'un donneur d'électron.....	250
5.7.2.3.	Photolyse de l'eau oxygénée à 30 %.....	250
5.7.3.	RADICAL MÉTHYLE $\text{CH}_3^\bullet$	250
5.7.3.1.	A partir de la réaction de Fenton.....	250
5.7.3.2.	Par photolyse de l'iodure de méthyle.....	251
5.7.4.	RADICAL $\text{CO}_2^\bullet$	251
5.7.5.	RADICAL GLUTATHIONYLE $\text{GS}^\bullet$	251
5.7.6.	RADICAL <i>TERTIOBUTOXYLE</i> $\text{TBUO}^\bullet$	251
5.7.7.	RADICAL <i>TERTIOBUTPEROXYLE</i> $\text{TBUOO}^\bullet$	252
5.7.8.	ADDUIT H.....	252
5.8.	RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	253
6.	<u>ANNEXES.....</u>	<u>255</u>
6.1.	DIAGRAMMES DE O_2.....	257
6.2.	SYNTHESE DE 3.....	259
6.3.	SYNTHESE DE 4.....	267
6.3.1.	SYNTHÈSE DU <i>N-TERTIOBUTYL</i> AMINOMÉTHYLÈNE BISPHOSPHONATE DE TÉTRAÉTHYLE 95 ³	267
6.3.2.	PROPOSITION DE MÉCANISME DE LA RÉACTION DE GEM DIPHOSPHORYLATION - EXEMPLE APPLIQUÉ À LA SYNTHÈSE DES COMPOSÉS CYCLIQUES	268
6.4.	RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	269
6.5.	TABLES ET SOMMAIRE.....	271
6.5.1.	TABLE DES ÉQUATIONS.....	271
6.5.2.	TABLE DES FIGURES.....	271
6.5.3.	TABLE DES SCHÉMAS.....	272
6.5.4.	TABLE DES TABLEAUX	277
6.5.5.	TABLE DES MATIÈRES.....	278

Dans la recherche de nouveaux pièges pour identifier par RPE les radicaux libres présents dans les milieux biologiques, particulièrement le superoxyde et le radical hydroxyle, le laboratoire a récemment mis au point une nouvelle nitrone, le 2-diéthoxyphosphoryl-2-méthyl-3,4-dihydro-2*H*-pyrrole-1-oxyde (DEPMPO), qui présente les avantages suivants par rapport au 2,2-diméthyl-3,4-dihydro-2*H*-pyrrole-1-oxyde (DMPO) couramment utilisé : meilleure persistance de l'adduit du superoxyde DEPMPO-OOH, absence de décomposition spontanée de cet adduit en l'adduit DEPMPO-OH, moindre sensibilité à l'addition nucléophile de l'eau. Ces caractéristiques sont liées à l'introduction du groupement -P(O)(OEt)₂ en position 2 du cycle. L'objectif de notre étude a été de synthétiser et tester plusieurs nitrones pour mieux cerner les effets électroniques et stériques du groupement phosphoré.

Nous avons préparé et testé trois nouvelles nitrones, le 2-diéthoxyphosphorylméthyl-2-méthyl-3,4-dihydro-2*H*-pyrrole-1-oxyde (ESP), le 2,2-bisdiéthoxyphosphoryl-3,4-dihydro-2*H*-pyrrole-1-oxyde (DPBO) et le 2-éthoxycarbonyl-2-méthyl-3,4-dihydro-2*H*-pyrrole-1-oxyde (EMPO). Dans ESP le groupement -P(O)(OEt)₂ est éloigné du cycle par un méthylène et ses performances dans le piégeage du superoxyde sont proches de celles de la DMPO. Dans la DPBO, l'introduction d'un second groupement -P(O)(OEt)₂ ne semble pas stabiliser l'adduit DPBO-OOH. L'EMPO, où le groupement phosphoré est remplacé par un groupement -CO₂Et, moins fortement électroattracteur, présente un comportement global plus proche de celui de la DEPMPO. La principale différence observée dans les propriétés de piégeage de toutes ces nitrones concerne la persistance des adduits du superoxyde. D'autres nitrones s'inscrivant dans cette étude sont en cours d'évaluation au laboratoire.

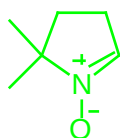
Synthesis of New Pyrrolin-*N*-Oxide Nitrones and their use in Spin-Trapping Experiments

In the field of the design of new free radical scavengers, especially for the ESR study of the role played by oxygen-centered species, such as superoxide and hydroxyl radical, involved in biological processes, the laboratory recently reported the synthesis of a new nitrone, the 2-diethoxyphosphoryl-2-methyl-3,4-dihydro-2*H*-pyrrole-1-oxide (DEPMPO). This nitrone was shown to be more efficient than the widely used 2,2-dimethyl-3,4-dihydro-2*H*-pyrrole-1-oxide (DMPO) : the superoxide spin adduct DEPMPO-OOH has a significantly larger half-life than DMPO-OOH, it does not decompose spontaneously into DEPMPO-OH, and DEPMPO is less sensitive to nucleophilic addition of water than DMPO. Such a behavior is related to the introduction of a -P(O)(OEt)₂ group in the 2-position of the ring. In the present work, we tried to investigate the electronic and steric effects of the phosphorus moiety. Then, we prepared 3 new nitrones, the 2-diethoxyphosphorylmethyl-2-methyl-3,4-dihydro-2*H*-pyrrole-1-oxide (ESP), the 2,2-bisdiethoxyphosphoryl-3,4-dihydro-2*H*-pyrrole-1-oxide (DPBO) and the 2-ethoxycarbonyl-2-methyl-3,4-dihydro-2*H*-pyrrole-1-oxide (EMPO). In ESP, the introduction of a methylene between the ring and the -P(O)(OEt)₂ group leads to a decrease of the electrowithdrawing effect, and the behaviour of this nitrone toward the spin trapping of superoxide is more similar to that of DMPO. For DPBO, the second phosphorylated group does not seem to stabilize the DPBO-OOH adduct. In the case of EMPO, the -P(O)(OEt)₂- group is replaced by -CO₂Et, which has a lower electrowithdrawing effect. The overall behavior of this nitrone is much closer to that of DEPMPO. The most important difference in the spin trap properties of all these nitrones is the persistence of their superoxide spin adduct. Other nitrones are currently investigated in the laboratory.

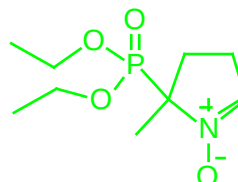
Discipline : **Chimie Organique**

Mots-Clés : Nitrone, Phosphore, Spin-Trapping, RPE, Superoxyde, Hydroxyle, Radicaux, DMPO, DEPMPO

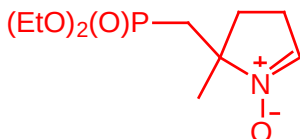
Laboratoire S.R.E.P. - UMR 6517 'CBRL' - Case 521
Avenue Escadrille Normandie-Niemen - 13397 MARSEILLE Cedex 20



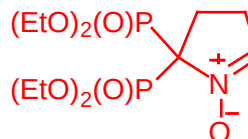
DMPO 1
2,2-diméthyl-3,4-dihydro-*2H*-pyrrole-1-oxyde



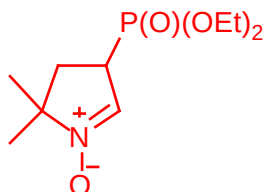
DEPMPO 2
2-diéthoxyphosphoryl-2-méthyl-3,4-dihydro-*2H*-pyrrole-1-oxyde



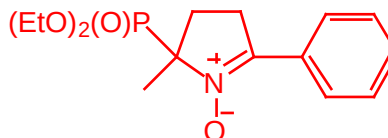
Espaceur ou ESP 3
2-(diéthoxyphosphorylméthyl)-2-méthyl-3,4-dihydro-*2H*-pyrrole-1-oxyde



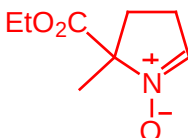
DPBO 4
2,2-bisdiéthoxyphosphoryl-3,4-dihydro-*2H*-pyrrole-1-oxyde



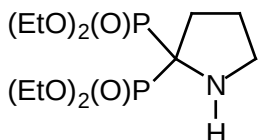
DOP-PD 5
2,2-diméthyl-4-diéthoxyphosphoryl-3,4-dihydro-*2H*-pyrrole-1-oxyde



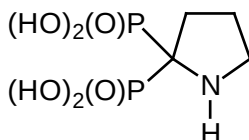
DEPMPO-Ph 6
2-diéthoxyphosphoryl-2-méthyl-5-phényl-3,4-dihydro-*2H*-pyrrole-1-oxyde



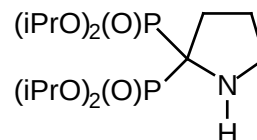
EMPO 7
2-éthoxycarbonyl-2-méthyl-3,4-dihydro-*2H*-pyrrole-1-oxyde



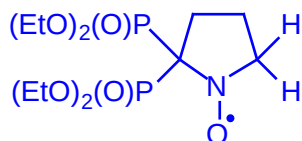
70
(pyrrolidine-2,2-diyl)
bisphosphonate de tétraéthyle



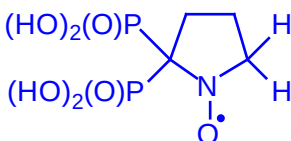
73
acide (pyrrolidine-2,2-diyl)
bisphosphonique



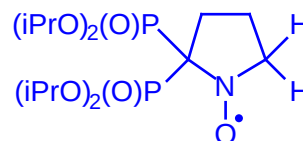
90
(pyrrolidine-2,2-diyl)
bisphosphonate de tétraisopropyle



70NO
2,2-bis(diéthoxyphosphoryl)
pyrrolidinoxyle



73NO
2,2-bis(dihydroxyphosphoryl)
pyrrolidinoxyle



90NO
2,2-bis(diisopropoxyphosphoryl)
pyrrolidinoxyle

Add Nu	Addition nucléophile
b.p.	Point d'ébullition (Boiling point)
CCM	Chromatographie sur couche mince
CPG	Chromatographie en phase gazeuse
DEPMPO 2	2-diéthoxyphosphoryl-2-méthyl-3,4-dihydro-2 <i>H</i> -pyrrole-1-oxyde
DEPMPO-Ph 6	2-diéthoxyphosphoryl-2-méthyl-5-phényl-3,4-dihydro-2 <i>H</i> -pyrrole-1-oxyde
DETAPAC	Acide diéthylènetriaminepentaacétique
DMD	Diméthyldioxirane
DMPO 1	2,2-diméthyl-3,4-dihydro-2 <i>H</i> -pyrrole-1-oxyde
DOP-PD 5	2,2-diméthyl-4-diéthoxyphosphoryl-3,4-dihydro-2 <i>H</i> -pyrrole-1-oxyde
DPBO 4	2,2-bisdiéthoxyphosphoryl-3,4-dihydro-2 <i>H</i> -pyrrole-1-oxyde
DTPA	Acide diéthylènetriaminepentaacétique
EDTA	Acide éthylènediamine tétraacétique
EMPO 7	2-éthoxycarbonyl-2-méthyl-3,4-dihydro-2 <i>H</i> -pyrrole-1-oxyde
ESP 3	2-(diéthoxyphosphorylméthyl)-2-méthyl-3,4-dihydro-2 <i>H</i> -pyrrole-1-oxyde
GPX	Glutathion peroxydase
HPLC	Chromatographie liquide haute performance (High performance liquid chromatography)
HRMS	Spectroscopie de masse haute résolution (High resolution mass spectroscopy)
HX	Hypoxanthine
Lumi	Lumiflavine
<i>m</i> -CPBA	Acide <i>mé</i> ta-chloroperbenzoïque
MDA	Malonaldéhyde
m.p.	Point de fusion (melting point)
NHE	Electrode normale à hydrogène
R _f	Rapport frontal
Ribo	Riboflavine
RPE	Résonance paramagnétique électronique
R.P.E.	Résonance paramagnétique électronique
SOD	Superoxydedismutase
TP pH X	Tampon phosphate 0,1 M pH X
Triton B	Hydroxyde du <i>N</i> -benzyltriméthylammonium
UV	Ultra-violet
XD	Xanthine déshydrogénase
XO	Xanthine oxydase