

ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES CHIMIQUES

Institut de Chimie, UMR 7177

THÈSE

présentée par

Pauline VORBURGER

soutenue le : **16 mars 2012**

pour obtenir le grade de

Docteur de l'université de Strasbourg

Discipline / Spécialité : chimie

Variations autour d'une porphyrine à anse phénanthroline : un site distal dynamique

THÈSE dirigée par :

M.WEISS Jean

Directeur de recherche C.N.R.S., université de Strasbourg

RAPPORTEURS :

M. BOITREL Bernard

Directeur de recherche C.N.R.S., université de Rennes 1

M. FAGES Frédéric

Professeur à l'université d'Aix-Marseille

MEMBRES DU JURY :

M. BOITREL Bernard

Directeur de recherche C.N.R.S., université de Rennes 1

M. DOUCE Laurent

Professeur à l'université de Strasbourg.

M. FAGES Frédéric

Professeur à l'université d'Aix-Marseille

M.WEISS Jean

Directeur de recherche C.N.R.S., université de Strasbourg

REMERCIEMENTS

Le projet présenté dans ce mémoire a été réalisé au sein du laboratoire CLAC de l'Institut de Chimie de Strasbourg. Il n'aurait pas été possible sans le soutien financier du Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche grâce auquel j'ai pu bénéficier d'une allocation de recherche MENRT.

Mes premiers remerciements vont bien évidemment en premier en lieu à toi, Jean (Juan Blanco ou Weiss Vador pour les intimes...). Tu as bien voulu m'accueillir au sein de ton laboratoire pour mon stage de Master 2 et décidé de continuer l'aventure pendant ces années de thèse. Merci pour l'expérience que tu m'as transmise, tes conseils quand la chimie n'en fait qu'à sa tête et surtout tes blagounettes à deux balles que je ressors tout le temps.

J'adresse ensuite ma profonde gratitude aux membres du jury, le Dr B. Boitrel, le Pr F. Fagès et enfin le Pr L. Douce pour avoir accepté de juger ce travail. Que de chemin parcouru depuis mes TP de première année encadrés par le Pr Douce...

Je remercie aussi l'ensemble des collaborateurs qui ont fait que cette thèse ait autant de magnifiques analyses : le Dr M. El Habiri pour ses travaux en UV-Visible, le Dr S. Choua sans qui la RPE n'aurait pas été possible, le Dr F. Melin pour les études de spectroscopie vibrationnelle, qui à ses heures perdues est aussi rédacteur en chef du journal « Closer University » et enfin le Pr C. Boudon pour l'électrochimie, à qui je souhaite bonne continuation et à bientôt autour d'une margharita.

Je n'oublie pas les « filles » du service commun de Spectrométrie de Masse, ni le personnel de la Microanalyse et plus particulièrement Martine Heinrich, consultante spéciale pour « Closer University ». Un grand merci aussi à toute l'équipe de RMN qui fait fonctionner ce service à merveille, et surtout à M. Coppe pour sa sympathie et toutes ses journées passées sur mes tubes.

Ensuite un petit mot pour toute l'équipe des permanents du labo. Tout d'abord merci à Jen (qui par la suite devint Jayne) pour ses conseils scientifiques avisés, son accent américain plus prononcé quand on a une facture trop grande chez le verrier, ses « tips make up and shopping » et bien sûr sa gentillesse. Merci aux natifs de la Tour de Chimie, Christophe et Romain, pour les

discussions très intéressantes que nous avons régulièrement eues, parfois même autour d'une bière à la k'fet. Enfin, merci à Marie-Noëlle, qui nous a récemment rejoint, pour son écoute, sa disponibilité et ses bons plans recettes et légumes.

Merci à Agnès pour sa bonne humeur et sa gestion efficace de toute la paperasse que j'ai dû affronter.

J'en arrive enfin à mes collègues de paillasse Juju et Vivess. Je leur souhaite tout d'abord une bonne continuation pour la fin de leur thèse. Ensuite je voudrais les remercier pour les bonnes tranches de rigolade qu'on a eu. Merci à Vivess, Gérard pour les intimes, pour l'air toujours très frais dans le bureau et pour avoir partagé sa culture ma-déesse.com et magic-ville.com. Merci à Juju autrement dit Face de Poker, pour son sens très juste du rythme et sa voix de castafiore. Sans lui je ne connaîtrais pas la meilleure radio de tous les temps : radio FG.

Un petit coucou aux anciens du labo et surtout à Nicus, David, Noelia et Mafalda. Merci pour les bons moments passés ensemble. Spéciale dédicace au Dr Mamadou, dont j'ai repris la thématique. Tu vois, j'y suis aussi arrivée...

Évidemment je n'oublie pas tous mes amis qui ont traversé ces années avec moi. Certains sont passés par là, d'autres non. En tout cas, merci d'avoir répondu présent quand une petite binouze s'imposait.

Je remercie sincèrement mes parents de m'avoir supportée et soutenue tout au long de cette thèse parce que c'était pas tous les jours évident. Je crois qu'ils méritent une médaille...

Merci à Bascule et Rustine pour leur participation active à la rédaction de ce manuscrit. Grâce à elles, j'ai découvert de nouveaux mots, sans doute des messages codés pour : croquettes, sieste, câlin, balle, j'en passe et des meilleurs...

Je terminerai par des remerciements tous particuliers à Greg qui a toujours eu confiance en moi et ne m'a jamais lâché. Ça fait du bien de pouvoir compter à ce point sur quelqu'un, surtout durant ces derniers mois.

SOMMAIRE

Table des matières

Table des matières	2
Liste des abréviations	5
INTRODUCTION	6
CHAPITRE I : un hème, de multiples fonctions	9
I. Généralités sur les hémoprotéines	10
II. Approche biologique ou approche chimique ?	12
II.1. La conception de modèles à partir de biomolécules	12
II.1.1. <i>De `ovo desig`</i> :	12
II.1.2. <i>Co`ceptio` à partir de structures `aturelles</i> :	14
II.2. La conception de modèles à partir de molécules organiques	16
III. Les différentes hémoprotéines et leurs modèles	16
III.1. Les hémoprotéines monométalliques	16
III.1.1. <i>Les fixateurs d'oxygè`e moléculaire : la myoglobi`e et l'hémoglobi`e</i>	17
III.1.1.a) Structure et fonction	17
III.1.1.b) Le développement de modèles synthétiques.....	21
III.1.2. <i>Des activateurs d'oxygè`e : les cytochromes P450</i>	25
III.1.2.a) Structure et fonction	25
III.1.2.b) La mise au point de modèles synthétiques	27
III.2. Un exemple d'enzyme à fer/cuivre : la cytochrome c oxydase.....	31
III.2.1. <i>Structure et fo`ctio`</i>	31
III.2.2. <i>L'élaboratio` de modèles biomimétiques</i>	33
IV. Objectifs	37
CHAPITRE II : variations autour d'une porphyrine à anse	42
I. Généralités sur les porphyrines	43
I.1. Structure de base et nomenclature.....	43
I.2. Géométrie du cycle.....	44
I.3. Caractéristiques spectrales	45
I.4. Spectroscopie RMN du proton	45
II. Synthèses de porphyrines à anse phénanthroline comme modèles d'hémoprotéines	46
II.1. La Porphen comme synthon de départ.....	46
II.2. Élaboration de modèles de cytochrome P450.....	48
II.2.1. <i>Fo`ctio` `alisatio` de la Porphen</i>	48
II.2.1.a) Synthèse	48
II.2.1.b) Caractérisation des produits 11 et 12	51

II.2.2. Synthèse de l'anse soufrée.....	52
II.2.3. Mise au point de l'anse pyridinique.....	54
II.2.3.a) Espaceur à trois atomes de carbone	54
II.2.3.b) Espaceur à quatre atomes de carbone.....	56
II.2.4. Autres approches	58
II.2.4.a) Synthèse à partir d'un dipyrrolylméthane substitué	58
II.2.4.b) Greffage des phénols sur l'anse phénanthroline.....	60
II.2.5. Récapitulatif.....	61
II.3. Modèles d'hémoprotéines à bras pyridinique.....	62
II.3.1. Modèle de myoglobine	62
II.3.1.a) Synthèse	63
II.3.1.b) Caractérisation de $[50Zn^{II}]$	65
II.3.1.c) Perspectives	66
II.3.2. Modèle du site actif de la cytochrome <i>c</i> oxydase	67
II.3.2.a) Synthèse de l'intermédiaire $[53Zn^{II}]$	67
II.3.2.b) Greffage des bras pyridiniques.....	68
III. Conclusion	69

CHAPITRE III : mise en évidence d'un système dynamique et études en présence de bases exogènes

I. Étude des complexes de zinc du modèle de cytochrome <i>c</i> oxydase	72
I.1. Caractérisation par RMN 1H d'un atropoisomère de $[54Zn^{II}]$	72
I.1.1. Expériences à 0 °C.....	73
I.1.2. Expériences à -60 °C	77
I.2. Expériences de RMN 1H à température variable.....	83
I.3. Complexation avec du cuivre (I).....	85
II. Étude du complexe de fer du modèle de cytochrome <i>c</i> oxydase	89
II.1. Complexation avec le fer (III).....	89
II.2. Caractérisation par résonance paramagnétique électronique.....	90
II.3. Étude de la coordination distale par des ligands exogènes.....	93
II.3.1. Cas de l'imidazole	94
II.3.2. Cas du 2-méthylimidazole	95
II.3.3. Cas du N-méthylimidazole.....	97
II.3.4. Cas de la pyridine	99
II.3.5. Récapitulatif.....	99
III. Conclusion	101

CHAPITRE IV : réactivité des complexes de fer et de fer/cuivre du modèle de cytochrome *c* oxydase en présence de dioxygène

I. Étude des complexes de fer et de fer/cuivre par UV-Visible	104
I.1. Les porphyrines de fer(II).....	104
I.2. Cas du complexe de fer.....	105

I.2.1. Dispositif expérimental et conditions opératoires	105
I.2.2. Caractérisation du complexe $[54Fe^{II}]$	106
I.2.3. Réactivité avec O_2 et CO	107
I.3. Mise en évidence de la formation d'un complexe de fer/cuivre	108
II. Caractérisation par RMN 1H	109
II.1. Les porphyrines de fer en RMN	109
II.2. Cas du complexe de fer	110
II.2.1. Caractérisation	110
II.2.2. Réactivité avec O_2 et CO	112
II.3. Cas du complexe de fer/cuivre	113
III. Utilisation de la spectroscopie vibrationnelle	115
III.1. Spectroscopie Raman	115
III.1.1. Application aux hémoprotéines	116
III.1.2. Étude du complexe fer/cuivre	117
III.2. Spectroscopie infrarouge	119
III.2.1. Spectres d'absorption infrarouge des porphyrines	120
III.2.2. Étude du modèle de cytochrome c oxydase $[54Fe^{II}]$	121
IV. Études électrochimiques	123
IV.1. À propos de l'électrochimie des porphyrines	123
IV.1.1. Les porphyrines bases libres	124
IV.1.2. Les métalloporphyrines	124
IV.2. Étude par voltampérométrie cyclique	125
IV.2.1. Cas du complexe $[54Fe^{III}]^+$	125
IV.2.2. Cas du complexe $[54Fe^{III}Cu^I]^{2+}$	127
IV.3. Étude par électrode rotative « disque-anneau »	129
IV.3.1. Dispositif expérimental	129
IV.3.2. Comportement des complexes $[54Fe^{III}]^+$ et $[54Fe^{III}Cu^I]^{2+}$ en électrocatalyse	130
V. CONCLUSION	133
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES	135
PARTIE EXPÉRIMENTALE	142
I General methods and material	143
II Experimental procedure section	144
BIBLIOGRAPHIE	164
PARTIE ANNEXE	172
I Liste des figures	173
II Liste des tableaux	177
RECAPITULATIF DES PRODUITS SYNTHÉTISÉS	178

Liste des abréviations

DMF	N,N-diméthylformamide
THF	Tétrahydrofurane
NBS	N-bromosuccinimide
DDQ	2,3-dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone
HR-MS	High Resolution Mass Spectrometry
ESI	Electrospray Ionization
RMN	Résonance Paramagnétique Nucléaire
RPE	Résonance Paramagnétique Electronique
IR	Infra Rouge
RX	Radiocristallographie des Rayons X
s	singulet
d	doublet
dd	doublet dédoublé
t	triplet
m	multiplet
Porphen	Porphyrine à anse phénanthroline
TPP	<i>Meso</i> tétraphénylporphyrine
OEP	Octaéthylporphyrine
ATP	Adénosine triphosphate
ADP	Adénosine diphosphate
ImH	Imidazole
2-MeImH	2-méthylimidazole
N-MeIm	N-méthylimidazole

INTRODUCTION

Introduction

Des microbes aux mammifères, en passant par les arbres, le monde du vivant dépend d'une multitude de réactions chimiques. Chacune de ces réactions est déclenchée, contrôlée ou arrêtée par des protéines spécifiques appelées enzymes. Parmi ces enzymes, certaines possèdent au sein de leur site actif un ou plusieurs métaux essentiels à leur activité catalytique ; on les appelle les métalloenzymes. Les hémoprotéines, qui contrôlent l'activité du dioxygène au sein des molécules du vivant, font partie de cette famille. Elles possèdent diverses fonctions et peuvent par exemple intervenir dans le transport ou le stockage de O₂ (hémoglobine ou myoglobine), dans l'oxydation de substrats organiques (cytochrome P450) ou dans la catalyse enzymatique (cytochrome *c* oxydase).

La fonctionnalité spécifique de chacune de ces hémoprotéines a poussé les chimistes à concevoir des modèles synthétiques reproduisant le plus fidèlement possible les sites actifs et leurs environnements protéiques. Certains de ces analogues sont obtenus par assemblage ou mutations de fragments protéiques, d'autres sont issus de la synthèse de molécules organiques. Dans tous les cas, le but est de mieux comprendre les propriétés catalytiques et la relation structure-réactivité de ces systèmes enzymatiques.

La résolution par diffraction des rayons X de divers sites actifs d'enzyme contribue au développement de la chimie biomimétique depuis une quarantaine d'années. Les premiers modèles d'hémoprotéines sont apparus dans les années 1970. De simples récepteurs d'O₂, leurs structures ont évolué pour parvenir à des mimes de plus en plus efficaces des systèmes biologiques naturels. Inspiré par les modèles décrits dans la littérature, le laboratoire a mis au point il y a quelques années une porphyrine à anse phénanthroline. Ce composé a l'avantage de posséder deux faces proximale et distale différenciées. Le caractère modulable de cette porphyrine renforce l'aspect générique du site distal. Plusieurs modèles d'hémoprotéines peuvent donc être envisagés à partir de ce synthon de départ.

L'objet de ce travail est de parvenir à des mimes efficaces de cytochromes P450 d'hémoglobine et de cytochrome *c* oxydase grâce à des variations synthétiques autour d'une porphyrine à anse phénanthroline. Le travail décrit dans ce manuscrit s'articule autour de quatre chapitres et d'une conclusion.

Le premier chapitre fait l'objet d'une mise au point bibliographique sur la conception de différents modèles d'hémoprotéines. L'approche biologique basée sur l'utilisation de protéines artificielles sera évoquée, ainsi que l'approche chimique utilisant la synthèse de molécules

organiques. Trois exemples types d'hémoprotéines seront considérés: la myoglobine et l'hémoglobine, responsables du stockage et du transport de O₂ chez les vertébrés, une monooxygénase, le cytochrome P450 et la cytochrome *c* oxydase qui effectue la réduction tétraélectronique de O₂ en H₂O. Après une brève présentation de chaque enzyme, nous nous intéresserons à l'évolution structurale de leurs analogues biomimétiques et aux conséquences de modifications structurales sur les propriétés catalytiques du système ou sur les adduits oxygénés formés. Enfin, le but de ce travail sera explicité et illustré par les différents modèles cibles visées.

Le deuxième chapitre concernera l'élaboration de modèles synthétiques à partir d'une porphyrine à anse multifonctionnelle. Dans un premier temps, les différentes approches synthétiques pour parvenir au modèle du cytochrome P450 seront décrites. Ensuite, nous nous intéresserons à la conception d'un analogue de la myoglobine, et enfin à l'élaboration d'un modèle de site actif de la cytochrome *c* oxydase.

Le troisième chapitre traitera de l'étude des propriétés dynamiques observées pour un modèle de cytochrome *c* oxydase. Ces phénomènes ont d'abord été analysés par RMN ¹H sur les complexes de zinc. Dans un second temps le complexe de fer correspondant a été préparé et caractérisé par RPE. Son affinité pour des ligands exogènes azotés sera examinée à l'aide de la RPE et spectrophotométrie UV-Visible.

Le quatrième chapitre sera consacré à une étude plus en détail de la réactivité du modèle de cytochrome *c* oxydase. Le réactivité du complexe de fer(II), obtenu par réduction de son complexe analogue de fer(III) en présence de dioxygène et de monoxyde de carbone a été étudiée par différentes techniques. Les résultats obtenus par spectrophotométrie UV-Visible, RMN ¹H, et spectroscopie vibrationnelle seront présentés. Enfin, les études électrochimiques e présence de O₂ seront examinées.

Pour conclure, les différentes perspectives envisagées à la suite de ce travail seront dégagées.

CHAPITRE I :

Un hème, de multiples fonctions

I. Généralités sur les hémoprotéines	10
II. Approche biologique ou approche chimique ?	12
II.1. La conception de modèles à partir de biomolécules	12
II.1.1. <i>De aovo desiga</i> :	12
II.1.2. <i>Coacceptioa à partir de structures aaturelles</i> :	14
II.2. La conception de modèles à partir de molécules organiques	16
III. Les différentes hémoprotéines et leurs modèles	16
III.1. Les hémoprotéines monométalliques	16
III.1.1. <i>Les fixateurs d'oxygèae moléculaire : la myoglobiae et l'hémoglobiae</i>	17
III.1.1.a) Structure et fonction	17
III.1.1.b) Le développement de modèles synthétiques	21
III.1.2. <i>Des activateurs d'oxygèae : les cytochromes P450</i>	25
III.1.2.a) Structure et fonction	25
III.1.2.b) La mise au point de modèles synthétiques	27
III.2. Un exemple d'enzyme à fer/cuivre : la cytochrome c oxydase	31
III.2.1. <i>Structure et foactioa</i>	31
III.2.2. <i>L'élaboratioa de modèles biomimétiques</i>	33
IV. Objectifs	37

Chapitre I : un hème, de multiples fonctions

I. Généralités sur les hémoprotéines

L'oxygène moléculaire constitue près de 21% du volume total de l'atmosphère. Il est produit lors de la photosynthèse chez les végétaux et consommé par les organismes aérobies lors de la respiration cellulaire. Ce processus permet aux cellules de produire de l'énergie sous forme d'ATP nécessaire à leur bon fonctionnement. Le dioxygène est donc indispensable au cycle de la vie et son activité au sein des molécules du vivant est assurée par une large variété de systèmes enzymatiques. Parmi ces systèmes, la famille des hémoprotéines, dont le groupement prosthétique est constitué d'une protoporphyrine IX de fer(II) (**Figure 1**), intervient lors de nombreux processus biologiques.¹

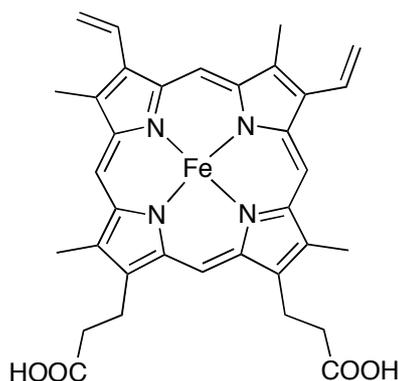


Figure 1: protoporphyrine IX de fer(II).

L'hème permet la coordination du dioxygène de l'air qui est utilisé à différentes fins :

- Le transfert à un substrat lors du processus d'oxydation par les cytochromes de la famille des P450 (monooxygénase),
- La fixation réversible lors du transport et du stockage par l'hémoglobine et la myoglobine respectivement,
- La réduction tétraélectronique en eau par la cytochrome *c* oxydase.

Cette liste résume de manière non exhaustive une partie de l'éventail des fonctions connues des hémoprotéines.

¹ Lippard, S. J.; Berg J. M. *Principes de chimie bioinorganique* 1997, Ed. DeBoeck Université.

Mais comment une structure hémique de type unique peut-elle engendrer une telle variété de fonctionnalités ? La réponse est principalement à chercher dans l'environnement protéique. En effet, la compréhension de la structure, de la réactivité et de la structure électronique des hémoprotéines a été possible grâce au développement de techniques de haute résolution (RMN, IR, radiocristallographie...). Il est maintenant admis que la fonction caractéristique de chaque hémoprotéine peut être directement reliée à l'environnement protéique du site actif. Elle dépend ainsi de la basicité des ligands axiaux du fer, de la structure tertiaire et primaire de la chaîne polypeptidique autour de l'hème.² Il faut donc étudier le site actif à plusieurs niveaux.

Si l'on considère la sphère de coordination du centre métallique, le caractère donneur du ligand axial est l'un des principaux facteurs de la spécificité biologique de ces métalloprotéines. Dans le cas de la myoglobine et de l'hémoglobine, en l'absence d'oxygène, le fer est pentacoordiné avec un imidazole comme ligand proximal, alors que les cytochromes P450 sont liés par l'atome de soufre d'un cystéinate. Ce changement de ligand entraîne un changement de fonction de l'hémoprotéine qui passe de fixateur à activateur de dioxygène.³ Plusieurs études de la protéine dans sa globalité, ont montré que les cytochromes P450 présentent un domaine hydrophobe spécifique permettant de sélectionner les xénobiotiques à oxyder. Si on s'intéresse au site distal, on peut noter la présence d'une histidine distale aux abords de l'hème de la myoglobine et de l'hémoglobine, qui stabilise le complexe oxygéné par liaison hydrogène. Enfin, les cytochromes *c* oxydase mettent en jeu plusieurs sites métalliques, constitués de cuivre et de fer, dont le rôle est d'assurer des transferts multiélectroniques.

Dans le but de clarifier certains aspects structuraux et fonctionnels, les chimistes ont conçu, synthétisé et caractérisé plusieurs modèles d'hémoprotéines développant ainsi la chimie biomimétique. L'objectif est d'obtenir de nouveaux composés de poids moléculaires faibles pouvant reproduire certaines ou toutes les caractéristiques des systèmes biologiques et réaliser des réactions chimiques spécifiques. Tout le défi réside alors dans la stratégie de synthèse du ligand.

² Lombardi A.; Nastro F.; Pavone V. *Acc. Chem.* **2001**, *101*, 3165.

³ Green, M. T. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2009**, *13*, 84.

II. Approche biologique ou approche chimique ?

L'élaboration de modèles d'hémoprotéines doit permettre l'obtention de catalyseurs de plus en plus efficaces, avec de meilleures propriétés, plus de stabilité et de spécificité, ou encore plus d'applications pharmaco-biotechnologiques.

II.1. La conception de modèles à partir de biomolécules

Le rôle des protéines est d'assurer une fonction spécifique et efficace en tant que biocatalyseur ou enzyme, grâce à une structure bien précise.⁴ La conception de protéines artificielles permet de mimer la protéine naturelle lui dotant ainsi des propriétés catalytiques intéressantes :⁵

- Site actif réorganisé pour l'état de transition
- Prédiction du centre catalytique
- Orientation directe de la réaction vers le groupement spécifique
- Régio-, stéré- et énantio-sélectivité

À partir d'informations connues sur la structure et les interactions d'une protéine avec son environnement, il est possible d'élaborer rationnellement de nouvelles protéines, soit « à partir de rien » (conception *de novo*), soit par mutation de structures protéiques naturelles.⁶

II.1.1. De novo design :

La conception *de novo* est basée sur la construction d'un polypeptide dont la séquence n'est pas directement reliée à un système naturel et permet le contrôle total de la structure et des propriétés de coordination d'un ligand. Ce type de concept est dépendant de l'arrangement secondaire et tertiaire de la protéine et des interactions qui en découlent.⁷ La plupart des travaux

⁴ Berry, S. M.; Lu, Y. *Protein Structure Design and Engineering, Encyclopedia of Life Science* **2011**, John Wiley & Sons, Ltd : Chichester. DOI : 10.1002/9780470015902.a0002983.pub2

⁵ Lu, Y. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 5588.

⁶ Lu, Y.; Yeung, N.; Sieracki, N.; Marshall, N. M. *Nature* **2009**, *460*, 855.

⁷ DeGrado, W. F.; Summa, C. M.; Pavone, V.; Nastro, F.; Lombardi, A. *Annu. Rev. Biochem.* **1999**, *68*, 779.

dans ce domaine se sont orientés vers la formation d'un faisceau de quatre hélices α .⁸ Ces arrangements sont obtenus par la dimérisation de deux di-hélices α en solution, formant ainsi une cavité hydrophobe. La présence d'histidines le long de la chaîne permet la coordination d'hèmes pour la construction de modèles rédox de protéines. Le peptide ci-dessous a été conçu pour mimer la sous-unité *b* du cytochrome *bc₁*, complexe de la chaîne respiratoire.

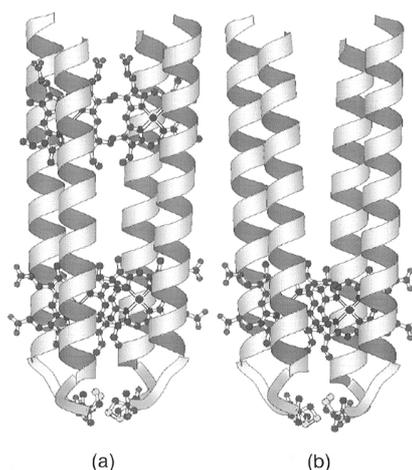


Figure 2 : représentation schématique de (a) la maquette de cytochrome *b*⁹ et (b) d'une variante dihémique.⁸

Par modification de l'histidine en 1-méthyl histidine, il a été montré que l'on passe d'un cytochrome hexacoordiné à un hème pentacoordiné.¹⁰ Ce changement de la sphère de coordination du fer produit un changement de comportement de la protéine, via l'utilisation d'un acide aminé non naturel. Cependant, la réaction de ce composé avec O_2 entraîne l'autooxydation et la dissociation de l'hème.

Un faisceau de quatre hélices α et deux hèmes, présentant des propriétés de transport de l'oxygène a récemment été mis au point.¹¹ Les constantes d'affinités mesurées sont proches de celles des globines naturelles. De plus la liaison hème-oxygène est plus forte que la liaison hème-monooxyde de carbone, ce qui n'est pas courant pour la plupart des hémoprotéines fixant O_2 . La clé de ce succès est due à la réduction de l'interface mobile de l'hélice provoquant ainsi

⁸ Kalsbeck, W. A.; Robertson, D. E.; Pandey, R. K.; Smith, K. M.; Dutton, P. L.; Bocian, D. F. *Biochemistry* **1996**, *35*, 3429.

⁹ Robertson, D. E.; Farid, R. S.; Moser, C. C.; Urbauer, J. L.; Mullholand, S. E.; Pidikiti, R.; Lear, J. D.; Wand, A. J.; DeGrado, W. F.; Dutton, P. L. *Nature* **1994**, *368*, 425.

¹⁰ Zhuang, J.; Amoroso, J. H.; Kinloch, R.; Dawson, J. H.; Baldwin, M. J.; Gibney, B. R. *Inorg. Chem.* **2004**, *43*, 8218.

¹¹ Koder, L. R.; Ross Anderson, J. L.; Solomon, L. A.; Reddy, K.S.; Moser, C. C.; Dutton, P. L. *Nature* **2009**, *458*, 305.

l'exclusion de l'eau, la diminution de l'oxydation de l'hème et l'augmentation de la stabilisation de la liaison avec le dioxygène.

D'autres recherches se sont intéressées à la conception de porphyrines liées à des peptides de façon covalente.¹² On appelle ces molécules des mimochromes (**Figure 3**). Elles sont relativement simples et comportent un hème en sandwich entre deux hélices α . Des liaisons amides sont établies entre le groupement propionique de l'hème et une lysine du peptide. Cet arrangement a été conçu pour créer un environnement distal et proximal autour de la porphyrine.

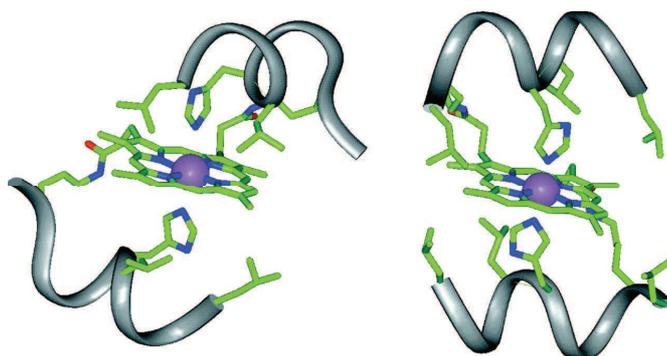


Figure 3 : conformations du mimochrome, isomère λ à gauche et isomère δ à droite.¹²

Le repliement en 3D des protéines n'est cependant pas encore complètement maîtrisé, ce qui limite le nombre de structures protéiques réalisables par la conception *de novo*.

II.1.2. Conception à partir de structures naturelles :

La banque de données de structures de protéines contient un très grand nombre de protéines d'architecture naturelles (~1000). Ces structures ont l'avantage d'être plus stables face aux mutations et conservent le même repliement 3D. Elles fournissent un plus grand choix de structures que le design *de novo* et rendent ce type de conception proche de la Nature. Cette approche utilise fortement la mutagenèse directe, qui dans certains cas entraîne un changement de fonction de la protéine ou la perte de son activité. Les résidus essentiels au rôle de la protéine peuvent ainsi être identifiés.

¹² a) Natri, F.; Lombardi, A.; Morelli, G.; Maglio, O.; D'Auria, G.; Pedone, C.; Pavone, V. *Chem. Eur. J.* **1997**, *3*, 340. b) Natri, F.; Lista, L.; Ringhieri, P.; Vitale, R.; Faiella, M.; Andreozzi, C.; Travascio, P.; Lombardi, A.; Maglio, O.; Pavone, V. *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 4444.

Lu *et al.*¹³ ont mis au point un modèle de cytochrome *c* oxydase ($Cu_B Mb$) à partir de myoglobine de cachalot (WTswMb). Des mutations de résidus distaux de l'hème ont été effectuées afin de créer un site de coordination pour le cuivre.

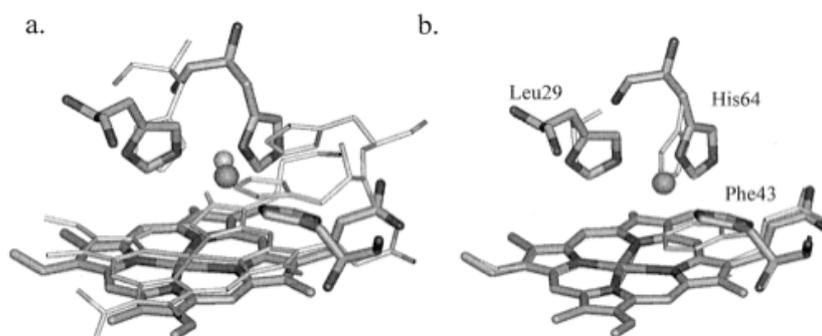


Figure 4 : (a) Superposition d'une structure cristallographique d'un CcO de cœur de bœuf (fin) et de la modélisation de $Cu_B Mb$ (épais) (b) Superposition d'une structure cristallographique de WTswMb (fin) et de la modélisation de $Cu_B Mb$ (épais).¹³

Par comparaison de ce mutant avec le type naturel, on constate, qu'il faut des relations mineures des chaînes latérales pour parvenir à un modèle coordonnant le cuivre. Ces paramètres de liaisons ont été comparés à ceux de la cytochrome *c* oxydase de cœur de bœuf et montrent bien la formation d'un centre Fe/Cu. Par ailleurs, des expériences de Watanabe *et al.*¹⁴ sur une série de mutants de la myoglobine, ont montré que des modifications de la 2^e sphère de coordination du site actif change l'activité de la myoglobine. Il en résulte que la spécificité des hémoprotéines n'est pas uniquement dépendante des différents ligands axiaux mais bien de l'ensemble de la structure protéique.

Cette approche biologique présente néanmoins certains désavantages, puisqu'elle nécessite la manipulation de complexes de taille et poids moléculaire importants, les rendant difficilement caractérisables et purifiables.

¹³ Sigman, J. A.; Kwek, B. C.; Lu, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 8192.

¹⁴ Watanabe, Y.; Nakajima, H.; Ueno, T. *Acc. Chem. Res.* **2007**, *40*, 554.

II.2. La conception de modèles à partir de molécules organiques

Un certain nombre de modèles de métalloprotéines ont été préparés à partir de la synthèse de molécules organiques.¹⁵ Ces catalyseurs chimiques ont l'avantage d'être :

- Plus petits que les enzymes artificielles
- Plus simples à obtenir, à caractériser et à un coût plus bas
- Résistants dans de rudes conditions (température et pression)

De plus, puisqu'ils ne sont pas encombrés par un environnement protéique, ils reflètent les propriétés intrinsèques du site actif. Une telle approche synthétique a été très efficace dans l'élucidation structurelle et fonctionnelle des propriétés des métalloprotéines. Un analogue approprié simule ou reproduit la composition de la sphère de coordination et la stéréochimie du site naturel. On distingue ainsi des analogues structuraux, qui copient fidèlement les détails d'organisation du site actif, et les analogues fonctionnels, qui permettent des réactions catalytiques à l'image de l'enzyme. Ceux-ci représentent un grand défi, car ils permettraient la réalisation de réactions telles que $N_2 \rightarrow NH_3$, $CH_4 \rightarrow CH_3OH$, $H_2O \rightarrow O_2$ dans des conditions ambiantes, de manière similaire aux systèmes biologiques.

Pour illustrer cette démarche, nous nous intéresserons à la conception de certains modèles d'hémoprotéines à fer (myoglobine, hémoglobine, cytochrome P450) et à fer/cuivre (cytochrome *c* oxydase).

III. Les différentes hémoprotéines et leurs modèles

III.1. Les hémoprotéines monométalliques

Ce type d'enzyme présente une seule variété d'ion métallique dans son site actif : le fer. L'hème peut alors jouer le rôle de fixateur réversible du dioxygène ou d'activateur.¹⁶ La fonction de la métalloprotéine dépend donc de la relation de l'hème à l'oxygène moléculaire et agira en tant que transporteur¹⁷ ou de catalyseur. Trois exemples d'hémoprotéines à fer vont être succinctement présentés ci-après.

¹⁵ Holm, R. H.; Solomon, E. I. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 347.

¹⁶ Mansuy, D.; Battioni, P. *Bioinorganic Catalysis* **1999**, Ed. Jan Reedijk et Elisabeth Bouwman, CRC Press.

¹⁷ Wilson, M. T.; Reeder, B. J. *Exp. Physiol.* **2007**, *93*, 128.

III.1.1. Les fixateurs d'oxygène moléculaire : la myoglobine et l'hémoglobine

L'hémoglobine et la myoglobine sont des partenaires pour le transport et le stockage de O₂ chez les vertébrés. Elles partagent des propriétés structurales, mais aussi des caractéristiques fonctionnelles et plus particulièrement la fixation de dioxygène par le fer et ses changements de degrés d'oxydation.¹⁸

III.1.1.a) Structure et fonction

La myoglobine est le transporteur intracellulaire de l'oxygène dans les tissus musculaires des vertébrés. Elle le stocke durant des périodes de repos jusqu'à son utilisation lors de la phosphorylation oxydative, produisant ainsi l'énergie nécessaire à la cellule.

C'est une protéine compacte, formée de huit hélices α constituant ainsi une poche hydrophobe pour la stabilisation du groupement prosthétique, la protoporphyrine (IX) de fer. La première haute résolution par cristallographie des rayons X a été effectuée sur de la myoglobine de cachalot (**Figure 5**).¹⁹

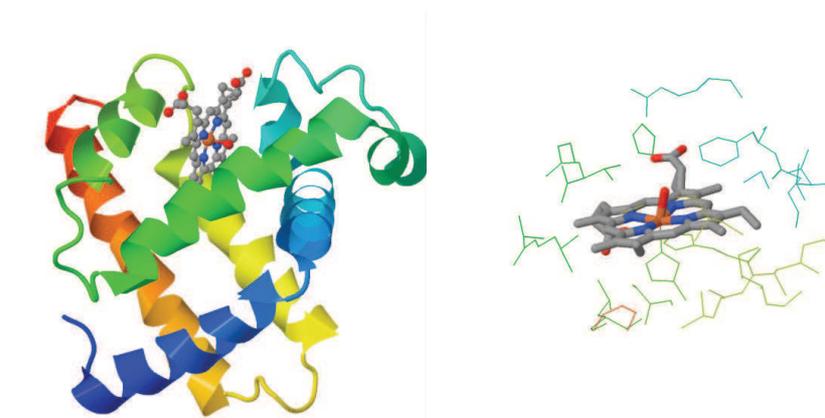


Figure 5 : structure générale de la myoglobine (gauche) (PDB 1MBN). Agrandissement du site actif (droite).

Cette structure a permis l'identification du site actif de la protéine. On a ainsi pu mettre en évidence la présence de deux résidus non polaires, la phénylalanine CD1 et la valine E11 et deux résidus polaires pointant vers l'hème, les histidines F8 et E7. L'histidine F8 fournit le

¹⁸ Collman, J.-P.; Boulatov, R.; Sunderland, C. J.; Fu, L. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 561.

¹⁹ a) Kendrew, J. C.; Bodo, G.; Dintzis, H. M.; Parrish, R. G.; Wyckoff, H. W.; Phillips, D. C. *Nature* **1958**, *181*, 662. b) Perutz, M. F.; Rossmann, M. G.; Cullis, A. F.; Muirhead, H.; Will, G.; North, A. C. T. *Nature* **1960**, *185*, 416.

ligand axial proximal de l'hème en stabilisant le complexe ferreux dans sa forme pentacoordinée (forme désoxy). L'histidine E7, dite distale, forme une liaison hydrogène avec l'atome terminal du dixygène dans la forme hexacoordinée de l'hème (forme oxy) (**Figure 6**). Cette liaison hydrogène a été mise en évidence par Pauling.²⁰ Il a ainsi proposé le modèle de coordination « end-on » plutôt que celui « side-on » développé par Griffiths.²¹ Par la suite, Collman *et al* ont démontré la coordination covalente de O₂ à l'aide d'une structure à rayons X obtenue sur le premier modèle synthétique de porphyrine à piquets.²²

Les hèmes libres en solution dans des solvants organiques présentent 30000 fois plus d'affinité pour le monoxyde de carbone que pour le dioxygène, alors que lorsqu'ils sont encastrés dans une matrice protéique de type myoglobine, ce ratio diminue jusqu'à 200. L'environnement protéique permet donc de discriminer le CO en faveur de O₂ afin d'éviter l'inhibition des hémoprotéines et permettre le transport et stockage de l'oxygène moléculaire. Des études²³ ont montré que la présence de l'histidine E7 à proximité du site actif déstabilise la liaison Fe-CO, (**Figure 6**) réduisant ainsi sa affinité. En effet, l'obtention de structures à rayons X sur des modèles,²⁴ mais aussi sur des hémoprotéines naturelles²⁵ ont établi que la liaison Fe-CO est linéaire. Dans la myoglobine et l'hémoglobine, on observe alors une distorsion de cette liaison par rapport au plan de la porphyrine, que l'on attribue à l'interaction stérique causée par l'histidine distale.

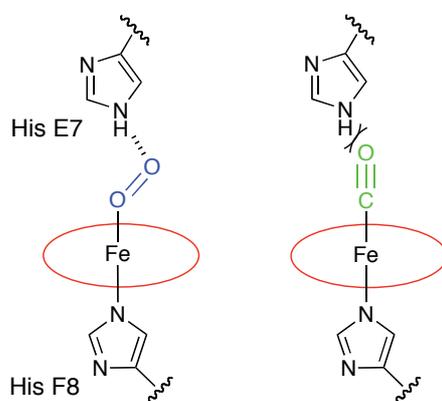


Figure 6: représentations de la coordination de O₂ et de CO.

²⁰ Pauling, L. *Nature* **1964**, 203, 182.

²¹ Griffiths, J. S. *Proc. Roy. Soc. Ser. A* **1956**, 235, 23.

²² Collman, J. P.; Gagne, R. R.; Reed, C. A.; Robinson, W. T.; Rodley, G. A. *Proc. Nat. Acad. Sci.* **1974**, 71, 1326.

²³ Collman, J. P.; Brauman, J. I.; Halbert, T. R.; Suslick, K. S. *Proc. Nat. Acad. Sci.* **1976**, 73, 3333.

²⁴ a) Peng, S. M.; Ibers, J. J. *Am. Chem. Soc.* **1976**, 98, 8032. b) Ray, G. B.; Li, X. Y.; Ibers, J. A.; Sessler, J. A.; Spiro, T. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 162.

²⁵ Norvell, J. C.; Nunes, A. C.; Schoenborn, B. P. *Science* **1975**, 190, 568.

L'hémoglobine est une protéine quaternaire qui se trouve essentiellement dans les globules rouges du sang (13.5 à 17.5 g.dL⁻¹ de sang chez l'homme et 12.5 à 15.5 g.dL⁻¹ de sang chez la femme). Sa principale fonction est d'assurer le transport de dioxygène dans l'organisme humain et chez les autres vertébrés en le fixant au niveau des poumons. Grâce à la circulation sanguine, l'hémoglobine oxygénée va être transportée vers l'ensemble des autres organes pour transférer par la suite le dioxygène à la myoglobine qui assure son stockage et son utilisation par les cellules qui en ont besoin.

La myoglobine est une protéine monomérique, alors que l'hémoglobine (**Figure 7**) est un tétramère constituée de deux chaînes α de 141 acides aminés et deux chaînes β de 146 acides aminés contenant un hème. Chacune de ces quatre sous unités forment une cage appelée globine qui évite l'oxydation irréversible de l'hème en présence de dioxygène. L'ensemble de la structure est maintenu par des interactions non covalentes. Le site actif de l'hémoglobine est identique à celui de la myoglobine. On retrouve la même porphyrine de fer entourée des mêmes types d'acides aminés.

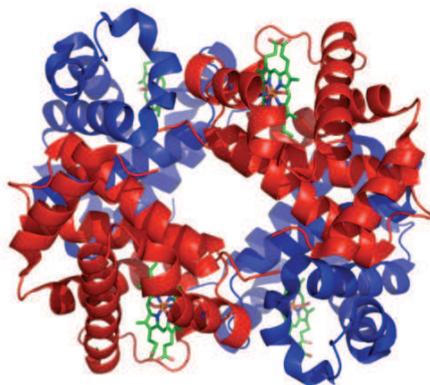


Figure 7 : Structure de l'hémoglobine humaine. Les sous-unités α sont en rouge et les β en bleu. Les hèmes sont représentés en vert (PDB 1GZX).

Chaque hémoglobine est capable de fixer quatre molécules de dioxygène dans un procédé coopératif, c'est-à-dire, que l'affinité de liaison avec O₂ est affectée par la saturation en O₂ de la molécule. En forme déoxy, la fixation de dioxygène est difficile, car le fer de l'hème se trouve en-dehors du plan de la porphyrine.²⁶ La protéine a une faible affinité pour O₂ et adopte une forme tendue T, maintenue par les ponts salins de la structure quaternaire. En forme oxy, la liaison Fe-O₂ entraîne le mouvement du fer dans le plan de la porphyrine induisant un

²⁶ Perutz, M. F. *Annu. Rev. Biochem.* **1979**, 48, 327.

changement de la structure tertiaire de la sous-unité. Cette modification facilite la liaison d'une deuxième molécule de dioxygène via un changement de structure quaternaire.²⁷ L'hémoglobine adopte une forme relâchée R, ayant une forte affinité pour O₂. Le passage de la forme T à R et vice-versa dépend de la pression partielle en dioxygène dans le milieu. Plus la pression est basse plus la conformation T est favorisée. Inversement, lorsque la pression est élevée on favorise la forme R.

La fixation de dioxygène moléculaire par l'hémoglobine est un processus réversible. C'est un équilibre avec une constante K assimilant les activités aux concentrations des espèces et pression des gaz.

$$K = \frac{[HbO_2]}{[Hb]P(O_2)} \text{ et } P_{1/2} = \frac{1}{K}$$

Une grandeur caractéristique de l'affinité pour le dioxygène d'une protéine est sa pression de demi-saturation P_{1/2}. Elle correspond à la pression partielle en dioxygène lorsque la moitié des sites est saturée. On peut ainsi tracer la courbe d'oxygénation de l'hémoglobine (**Figure 8**) et la comparer à celle de la myoglobine.

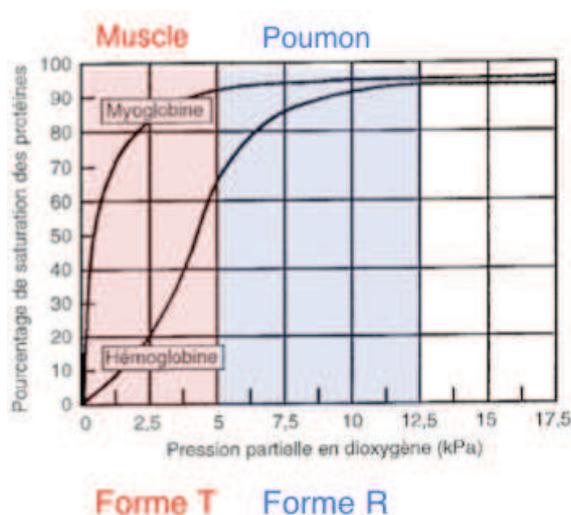


Figure 8 : courbes d'oxygénation de la myoglobine et de l'hémoglobine.

Dans le cas de la myoglobine, on observe une hyperbole dont la pente est relativement importante au départ puis stagne jusqu'à ce que les sites à oxygéner deviennent si rares qu'il faut une forte pression de dioxygène. Dans le cas de l'hémoglobine, la courbe est une sigmoïde. Cette forme signifie que la désoxyhémoglobine fixe plus difficilement les premières molécules de

²⁷ Miura, S.; Ho, C. *Biochem.* **1984**, *23*, 2492.

dioxygène, mais que l'affinité croît au fur et à mesure qu'elle absorbe ce gaz et que la pression augmente. Il existe donc bien un lien entre la coopérativité et la transition entre les deux structures quaternaires T et R.

III.1.1.b) Le développement de modèles synthétiques

Les conditions de base pour la synthèse de modèles fixant réversiblement le dioxygène font intervenir une porphyrine de fer pentacoordiné et tous les moyens pour éviter son oxydation irréversible.²⁸ À travers divers systèmes, nous verrons comment isoler l'hème dans un environnement hydrophobe pour préserver la formation du dimère μ -oxo.²⁹

C'est en 1973 que Collman *et al*³⁰ ont mis au point le premier modèle synthétique d'hémoprotéine fixant réversiblement le dioxygène à 25 °C, la « *picket-fence porphyrin* » (**Figure 9**). Ce composé est constitué d'une porphyrine de fer dont l'une des faces est occupée par quatre groupements de type pivalamido, créant une cavité hydrophobe. L'autre face est laissée libre pour la coordination d'un ligand encombré dérivé de l'imidazole.

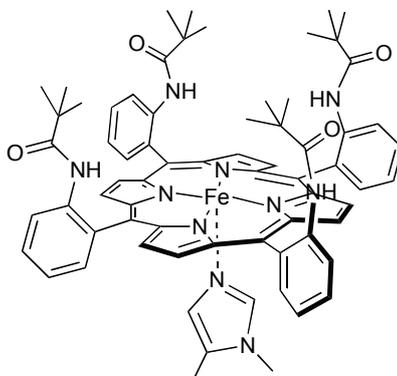


Figure 9: la « *picket-fence porphyrin* » de Collman.

La porphyrine est donc protégée contre l'oxydation, tout en maintenant une accessibilité à O₂. La variation de la base axiale utilisée permet de moduler l'affinité de ce composé pour le

²⁸ Momenteau, M.; Reed, C. A. *Chem. Rev.* **1994**, *94*, 659.

²⁹ Hoffman, A. B.; Collins, D. M.; Day, V. W.; Fleischer, E. B.; Srivastava, T. S.; Hoard, J. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 3620.

³⁰ a) Collman, J. P.; Gagne, R. R.; Halbert, T. R.; Marchon, J. C.; Reed, C. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 7868. b) Collman, J. P.; Gagne, R. R.; Halbert, T. R.; Reed, C. A.; Lang, G.; Robinson, W. T. *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97*, 1427.

dioxygène.³¹ Ainsi, en présence de 1,2-diméthylimidazole, on obtient des modèles de forme « T » et en présence de *N*-méthylimidazole, on obtient des modèles de forme « R ». De même l'équilibre solide gaz entre le dioxygène et la porphyrine à l'état solide a mis en évidence le phénomène de coopérativité³² de la coordination de O₂.

Ce modèle a tout de même une limite de ce modèle. En effet, il ne peut pas empêcher la formation du complexe bis-imidazole hexacoordiné en présence d'un excès de base. C'est pourquoi, pour s'affranchir de la présence d'une base exogène, une seconde génération de porphyrines à piquets a donc été développée, possédant une base axiale intramoléculaire dérivée de l'imidazole, la « *tailed picket-fence porphyrin* » (FePiv₃(5CImP)Por) (**Figure 10**).³³

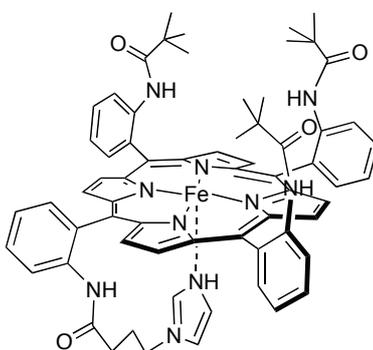


Figure 10: la « *tailed picket-fence porphyrin* » de Collman.

Le seul inconvénient de ce modèle est sa grande affinité pour le monoxyde de carbone, beaucoup trop importante par rapport à celle des systèmes naturels.³⁴ En effet, contrairement aux hémoprotéines, ce composé modèle ne présente aucune gêne stérique pour la fixation du CO (**Tableau 1**).

Système	Milieu	P _{1/2} CO (20-25 °C), Torr
Mb	Aqueux, pH 7-7,5	1,2-2,8 x 10 ⁻²
Hb (R)	Aqueux, pH 7-7,5	1-4 x 10 ⁻³
FePiv ₃ (5CImP)Por	Toluène	2,2 x 10 ⁻⁵

Tableau 1 : affinité pour le CO de la myoglobine, l'hémoglobine et la FePiv₃(5CImP)Por³³.

³¹ Collman, J. P.; Brauman, J. I.; Doxsee, K. M.; Halbert, T. M.; Suslick, K. S. *Proc. Nat. Acad. Sci.* **1978**, 75, 564.

³² Collman, J. P.; Brauman, J. I.; Rose, E.; Suslick, K. S. *Proc. Nat. Acad. Sci.* **1978**, 75, 1052.

³³ Collman, J. P.; Brauman, J. I.; Doxsee, K. M.; Halbert, T. R.; Bunnenberg, E.; Linder, R. E.; LaMar, G. N.; Del Gaudio, J.; Lang, G.; Spartalian, K. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, 102, 4182.

³⁴ Collman, J. P.; Brauman, J. I.; Doxsee, K. M. *Proc. Nat. Acad. Sci.* **1979**, 76, 6035.

Une autre approche dans l'obtention de modèles d'hémoglobine est le design de « *basket-handle porphyrin* » (**Figure 11**), surtout développée par Momenteau *et al.*³⁵ Ce nouveau système est composé d'une porphyrine de fer dont les deux faces sont encombrées par des anses. L'une d'elles permet sert de base axiale (pyridine ou imidazole), l'autre crée une cavité protectrice dont la taille et la polarité peuvent être modulées.

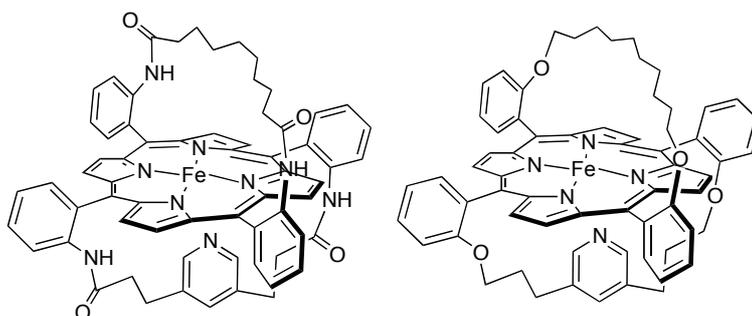


Figure 11: porphyrines de type « *basket-handle* » avec groupements amido (gauche) et éther (droite).

Différentes propriétés structurales ont été étudiées afin de mieux comprendre comment la structure régule la réactivité vis-à-vis de O₂ et du CO. Ainsi plusieurs séries de « *basket-handle porphyrin* » ont été obtenues.³⁶ Dans un premier temps, le point d'ancrage de l'anse distale sur le cycle porphyrinique a été modifié. Les groupements éthers ont été remplacés par des groupements amidos, augmentant l'affinité pour le dioxygène d'un facteur dix.³⁷ Des analyses RMN ont mises en évidence la présence d'une liaison hydrogène stabilisant le complexe oxygéné. La cavité distale a également subi des variations stériques par introduction sur la chaîne carbonée d'un groupement phényle. Enfin, différentes contraintes telles que la taille de l'anse et la modification de la base utilisée ont été imposées sur la face proximale. La détermination de paramètres cinétiques et de constantes d'équilibre pour O₂ et CO de tous ces composés³⁸ a permis de mieux comprendre la relation structure-réactivité nécessaire à la conception de modèles efficaces.

³⁵ a) Momenteau, M.; Mispelter, J.; Loock, B.; Bisagni, E. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* , **1983**, 189. b) Momenteau, M.; Mispelter, J.; Loock, B.; Lhoste, J.-M. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* , **1985**, 61.

³⁶ a) Momenteau, M.; Mispelter, J.; Loock, B.; Lhoste, J.-M. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* , **1985**, 221. b) Momenteau, M.; Mispelter, J.; Loock, B.; Lhoste, J.-M. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1988**, 283. c) Maillard, P.; Schaeffer, C.; Huel C.; Lhoste, J.-M.; Momenteau, M. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1988**, 3285.

³⁷ Lavalette, D.; Momenteau, M. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1982**, 341.

³⁸ Lavalette, D.; Tetreau, C.; Mispelter, J.; Momenteau, M.; Lhoste, J.-M. *Eur. J. Biochem.* **1984**, 145, 555.

Tous les modèles décrits précédemment sont capables de fixer réversiblement le dioxygène en milieu organique. En conjuguant la biologie à la chimie, il est possible de développer des transporteurs artificiels d'O₂ solubles et stables en milieux aqueux, pouvant être utilisés dans le domaine biomédical. Tsuchida *et al.*,³⁹ ont mis au point des hybrides constitués d'une porphyrine de fer synthétique incorporée dans une protéine de transport, la HSA (*human serum albumin*) (**Figure 12**). La HSA est la protéine de transport la plus importante du plasma sanguin. On la trouve à des concentrations allant de 30 à 50 g.L⁻¹ dans le sang et elle est capable de fixer jusqu'à huit hèmes.

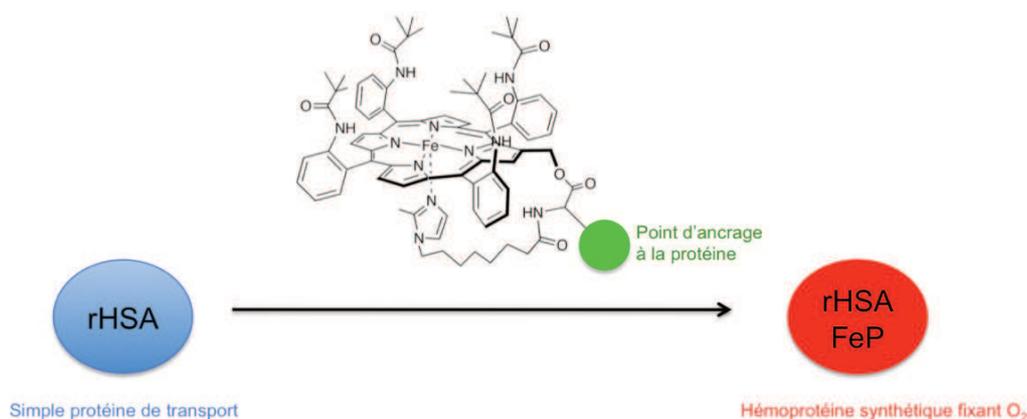


Figure 12: modèle de Tsuchida⁴⁰

C'est en s'inspirant de la « *picket-fence porphyrin* » de Collman, que plusieurs hybrides ont été obtenus au cours de ces dernières années.⁴¹ Des changements dans la constitution des porphyrines de fer permettent de contrôler les paramètres de liaison du dioxygène, particulièrement la structure et la basicité de la base proximale.⁴²

Des tests biologiques ont montré la compatibilité *in vitro* des hybrides albumine-hème avec les composants des globules rouges.⁴³ En effet, l'hème reste coordonné à HSA et n'est pas transféré à l'un des constituants du sang. De plus, la concentration et la forme des globules rouges restent constantes même après 6 H à 37 °C. Ces dérivés semblent donc être de très bons candidats pour des évaluations cliniques et promettent une bonne biocompatibilité *in vivo*.

³⁹ Tsuchida, E.; Sou, K.; Nakagawa, A.; Sakai, H.; Komatsu, T.; Kobayashi, K. *Bioconjugate Chem.* **2009**, *20*, 1419.

⁴⁰ Wang, R.-M.; Komatsu, T.; Nakagawa, A.; Tsuchida, E. *Bioconjugate Chem.* **2005**, *16*, 23.

⁴¹ a) Tsuchida, E.; Komatsu, T.; Matsukawa, Y.; Hamamatsu, K.; Wu J. *Bioconjugate Chem.* **1999**, *10*, 797. b) Komatsu, T.; Matsukawa, Y.; Tsuchida, E. *Bioconjugate Chem.* **2002**, *13*, 397.

⁴² Nakagawa, A.; Komatsu, T.; Iizuka, M.; Tsuchida, E. *Bioconjugate Chem.* **2008**, *19*, 581.

⁴³ Huang, Y.; Komatsu, T.; Nakagawa, A.; Tsuchida, E.; Kobayashi, S. *J. Biomed. Mater. Res.* **2002**, *66A*, 292.

D'autres groupes se sont orientés vers la mise au point d'analogues synthétiques d'hémoprotéines via une approche supramoléculaire. Plus particulièrement les équipes T. Hayashi et de K. Kan ont inspiré les perspectives de ce travail qui seront présentées à la fin du manuscrit.

III.1.2. Des activateurs d'oxygène : les cytochromes P450

Il existe trois classes principales d'hémoprotéines impliquées dans l'activation du dioxygène selon différents mécanismes. Nous nous intéresserons plus particulièrement à un exemple de la classe des monooxygénases catalysant l'insertion d'un seul atome d'oxygène et réduisant le deuxième atome en une molécule d'eau.⁴⁴ Identifiés et isolés pour la première fois en 1958, les cytochromes P450 doivent leur nom à leurs propriétés optiques : Pour pigment et 450 pour la longueur d'onde associée à la bande de Soret en présence de monooxyde de carbone.⁴⁵ Ce type d'enzyme est présent chez toute forme de vie, des plantes aux mammifères en passant par les bactéries, et leur nombre peut varier de 50 à 150 pour un même organisme.

III.1.2.a) Structure et fonction

Les cytochromes P450 sont des protéines transmembranaires regroupées par famille en fonction de leurs analogies physiologiques.⁴⁶ En 1985, Poulos *et al* ont déterminé la première structure cristalline de cytochrome P450 de *Pseudomonas Putida*, catalysant l'hydroxylation spécifique du camphre⁴⁷ (**Figure 13**).

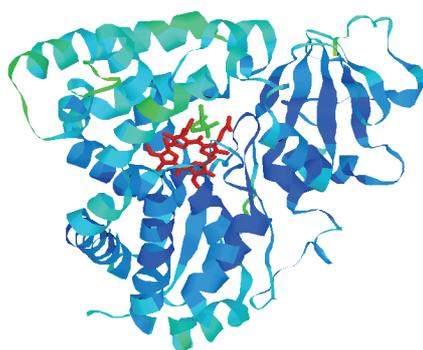


Figure 13: structure du cytochrome P450 (hème en rouge) ayant fixé une molécule de camphre (vert) (PDB 5CP4).

⁴⁴ Ortiz de Montellán, P. R. *Cytochrome P450 : structure, mechanism and biochemistry* 1995, Ed. Plenum, New York.

⁴⁵ Omura, T.; Sato, R. *J. Bio. Chem.* 1964, 239, 2370.

⁴⁶ <http://drnelson.uthsc.edu/CytochromeP450.html>

⁴⁷ Poulos, T. L.; Finzel, B. C.; Gunsalus, I. C.; Wagner, G. C.; Kraut, J. *J. Bio. Chem.* 1985, 260, 16122.

Depuis, plusieurs structures cristallines de cytochromes P450 de diverses origines ont été résolues (**Figure 14**), notamment celle d'un cytochrome de lapin en 2000⁴⁸ et en 2005 celles de plusieurs cytochromes du foie humain.⁴⁹

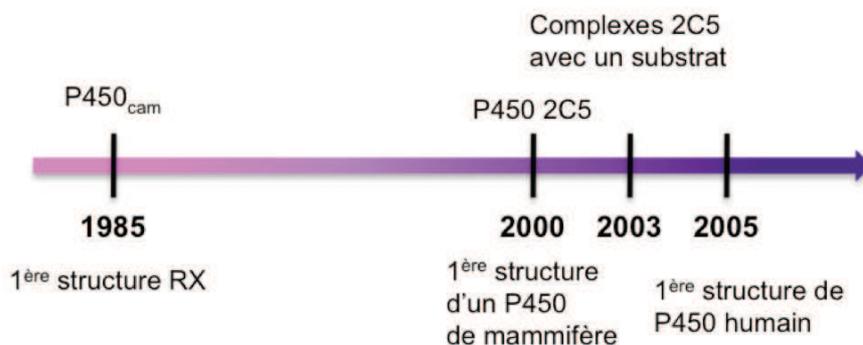


Figure 14: quelques dates de découvertes de structures de cytochromes P450.

L'ensemble de ces structures montrent que les cytochromes P450 possèdent des propriétés communes. Tout d'abord un hème lié de façon proximale par une cystéine et entouré de résidus apolaires. Cet hème est totalement enfoui entre deux hélices et n'a pas accès à la surface moléculaire. Ensuite, pour chaque cytochrome P450 on dénombre en tout douze hélices (A-L), pouvant être séparées en deux domaines : l'un riche en hélices de structure rigide, l'autre pauvre en hélices donc plus souple. La variabilité et la souplesse de ce domaine sont à mettre en relation avec la réactivité de chaque P450.

En effet, les cytochromes P450 modifient les molécules exogènes hydrophobes en dérivés solubles pour permettre leur évacuation de l'organisme. Ils catalysent ainsi la monooxygénation de quasiment tous les substrats organiques, jouant un rôle clé dans l'élimination des composés toxiques.⁵⁰ Comme chaque P450 est capable de lier une large variété de molécule, le site actif doit donc être large et doit présenter une certaine flexibilité. Mansuy *et al*⁵¹ ont réalisé des structures cristallographiques de P450 fixant des dérivés de diclofénac et de sulfophénazole. Ils ont ainsi démontré la grande adaptation conformationnelle du site actif pour différents substrats, qui entraîne des interactions de liaison permettant le contrôle de l'accès des protons au site actif.

⁴⁸ Williams, P. A.; Cosme, J.; Sridhar, V.; Johnson, E. F.; McRee, D. E. *Mol. Cell.* **2000**, *5*, 121.

⁴⁹ Johnson, F. E.; Stout, C. D. *Biochem. Biophys. Chem. Commun.* **2005**, *338*, 331.

⁵⁰ Mansuy, D. *C. R. Chimie* **2007**, *10*, 392.

⁵¹ a) Wester, M. R.; Johnson, E. F.; Marques-Soares, C.; Dansette, P. M.; Mansuy, D.; Stout, C. D. *Biochemistry* **2003**, *42*, 6370. b) Wester, M. R.; Johnson, E. F.; Marques-Soares, C.; Dijols, S.; Dansette, P. M.; Mansuy, D.; Stout, C. D. *Biochemistry* **2003**, *42*, 9335.

Le mécanisme d'oxydation des cytochromes P450 met en jeu un cycle catalytique,⁵² dont la nature exacte des espèces actives responsables de l'étape d'insertion du dioxygène reste au centre d'un débat. Cette réaction nécessite l'utilisation de deux électrons fournis par le NADH à travers des partenaires rédox, mais aussi une série d'acides aminés⁵³ dans la poche distale transférant les protons nécessaires aux différents intermédiaires. Par ailleurs, il a été montré que la liaison d'un cystéinate comme ligand proximal joue un rôle important dans la rupture de la liaison O-O.⁵⁴

III.1.2.b) La mise au point de modèles synthétiques

Les monooxygénases à cytochrome P450 ont beaucoup attiré l'attention des chimistes et ont conduit à la synthèse de nombreux modèles à base de métalloporphyrines. En effet, les porphyrines sont attirantes pour l'élaboration de catalyseurs asymétriques car elles présentent un cœur macrocyclique rigide et une périphérie largement modifiable.

Les premières métalloporphyrines capables de transférer un atome d'oxygène à un substrat ont été décrites par Groves *et al.*⁵⁵ Ces deux dérivés de tétraphénylporphyrine (**Figure 15**) catalysent l'époxydation sélective d'alcènes utilisant l'iodosylbenzène comme donneur d'oxygène.

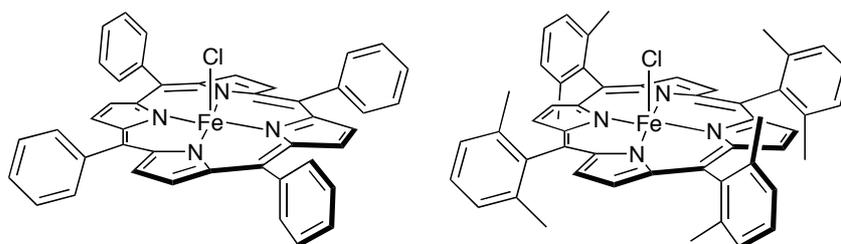


Figure 15: premiers modèles de Groves.

Pour prouver l'efficacité catalytique des ces deux porphyrines, plusieurs substrats ont été testés. Il a été montré que dans le cas du stilbène, l'époxydation du composé *cis* est quinze fois plus rapide que celle du composé *trans*. Cependant, l'exposition de la solution à l'air ou à

⁵² Hamdane, D.; Zhang, H.; Hollenberg, P. *Photosynth. Res.* **2008**, *98*, 657.

⁵³ Meunier, B.; de Visser, S. P.; Shaik, S. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 3947.

⁵⁴ Sono, M.; Roach, M. P.; Coulter, E. D.; Dawson, J. H. *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 2841.

⁵⁵ a) Groves, J. T.; Nemo, T. E.; Myers, R. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 1032. b) Groves, J. T.; Nemo, T. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 5786.

l'oxygène entraîne le processus d'autoxydation irréversible de la porphyrine. Pour pallier ce problème et en s'inspirant des travaux de Collman sur la « picket-fence porphyrin », une nouvelle série de porphyrines de fer substituées et chirales a été mise au point (**Figure 16**).⁵⁶

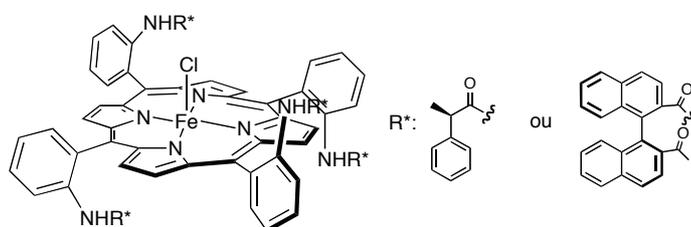


Figure 16: modèles à piquets.

Le but est d'encombrer suffisamment la face distale pour éviter la formation de dimères tout en permettant l'accès aux différents substrats. En fonction du catalyseur utilisé, l'époxydation du styrène produit un excès énantiomérique de 31 à 48% de l'énantiomère R. Comme pour les modèles précédents, les oléfines *cis* sont plus réactives que les oléfines *trans*. Cependant, le changement de l'environnement stérique a un effet prononcé sur l'induction asymétrique : plus l'oléfine est substituée, plus l'excès énantiomérique diminue. Ces excès énantiomériques sont donc limités par la mobilité conformationnelle des substituants chiraux portés par les porphyrines.

Rose *et al*⁵⁷ ont développé une nouvelle $\alpha\alpha\beta\beta$ -porphyrine de fer chirale A (**Figure 17**), dont les deux faces sont protégées par une anse binap. Ce système bis-anses,⁵⁸ a l'avantage d'offrir l'espace suffisant pour l'approche de substrats tout en imposant de l'encombrement stérique au site métallique.

⁵⁶ Groves, J. T.; Myers, R. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 5791.

⁵⁷ Collman, J. P.; Wang, Z.; Straumanis, A.; Quelquejeu, M.; Rose, E. *J. Am. Chem. Soc.*, **1999** *121*, 460.

⁵⁸ Rose, E.; Quelquejeu, M.; Lecas-Nawrocka, A.; Vilar, A.; Ricart, G.; Collman, J. P.; Straumanis, A. *Polyhedron* **2000**, *19*, 581.

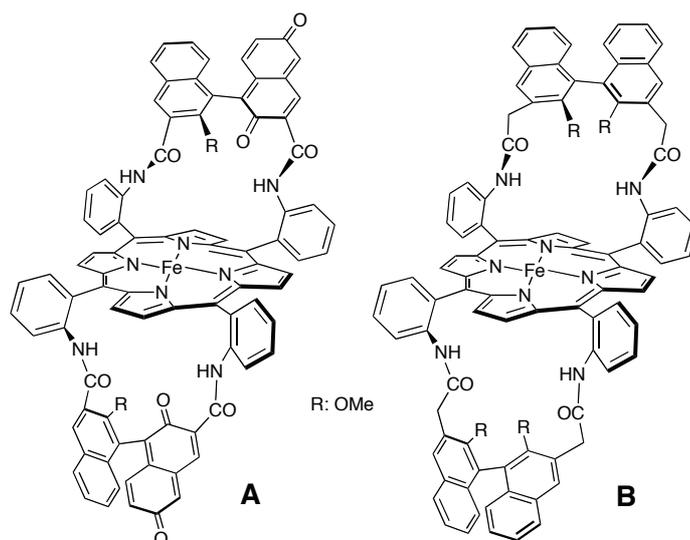


Figure 17: porphyrines siège de Rose.

Ce catalyseur permet une très bonne sélectivité pour l'époxydation de dérivés du styrène et d'alcènes terminaux. Dans le cas du styrène, l'excès énantiomérique atteint 83% en faveur de l'énantiomère S avec un rythme de 40 ton/min. L'époxydation se poursuit jusqu'à 5500 turnovers tout en maintenant l'excès énantiomérique à 75%. Cela montre bien l'avantage de cette structure : atteindre de grands excès énantiomériques tout en conservant l'activité du catalyseur.

En homologuant l'anse binap de cette porphyrine siège,⁵⁹ un nouveau catalyseur B (**Figure 17**) a été obtenu. L'époxydation du styrène atteint un excès énantiomérique de 97% de l'énantiomère S, tout en conservant l'activité du catalyseur. De plus, ce modèle est robuste puisqu'il peut être utilisé une deuxième fois sans perte d'induction asymétrique.

D'autres études se sont plutôt intéressées au rôle joué par le thiolate de la cystéine du ligand proximal, dans le but de mieux comprendre et identifier les différents complexes de fer du cycle catalytique. L'état de repos du cytochrome P450_{cam} est un intermédiaire important du cycle catalytique, puisqu'il possède un potentiel rédox E_0 négatif de -290 mV, dû au caractère électrodonneur du ligand soufré coordonné à l'hème. Woggon *et al* ont mis au point une variété de séries⁶⁰ de modèles synthétiques à base de porphyrines de fer capables de catalyser l'oxydation de différents substrats.

⁵⁹ Rose, E.; Ren, Q.-I.; Andrioletti, B. *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 224.

⁶⁰ a) Kozuch, S.; Leifels, T.; Meyer, D.; Sbaragli, L.; Shaik, S.; Woggon, W.-D. *Synlett* **2005**, *4*, 675. b) Woggon, W.-D. *Acc. Chem. Res.* **2005**, *38*, 127.

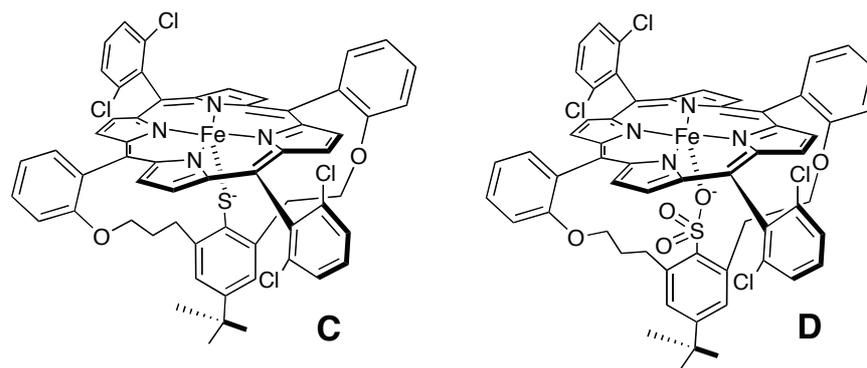


Figure 18: modèles de Woggon.

Les modèles présentés sur la (**Figure 18**) sont tous deux constitués d'une porphyrine possédant des groupements périphériques électroattracteurs, dont un des ligands est substitué par un thiolate (S^-) lié de façon covalente l'une anse de la face proximale. Le modèle C est capable de réaliser l'époxydation régiosélective de différents substrats, mais le thiolate ne résiste pas aux conditions oxydantes du cycle catalytique. De plus, son potentiel rédox E_0 vaut -460 mV, ce qui est plutôt négatif comparé au système naturel.

Dans le cytochrome P450_{cam}, des analyses de radiocristallographie des rayons X⁶¹ ont montré que cette différence de potentiel est due à des liaisons hydrogènes du thiolate de la cystéine avec des groupements amides d'acides aminés, réduisant la densité de charge sur le soufre. C'est pourquoi le modèle D⁶² (**Figure 18**) a été conçu, par remplacement du S^- par un SO_3^- . Ce complexe présente un E_0 de -134 mV, ce qui est similaire au potentiel rédox observé pour le cytochrome P450_{cam}. Il offre également l'avantage de résister aux conditions oxydantes du cycle catalytique et de posséder une très bonne réactivité vis-à-vis de l'époxydation d'oléfines avec des turnovers supérieurs à 1800.

À travers ces exemples, on peut noter que la contribution principale de l'étude de ces modèles concerne à la fois la compréhension de la relation structure-réactivité des hèmes et la nature des différents complexes de fer formés lors de la réaction des substrats avec les P450.

⁶¹ Poulos, T. L. *J. Bio. Inorg. Chem.* **1996**, *1*, 356.

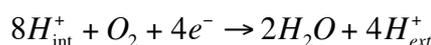
⁶² a) Meyer, D.; Leifels, T.; Sbaragli, L.; Woggon, W.-D. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **2005**, *338*, 372.
b) Sbaragli, L.; Woggon, W.-D. *Synthesis* **2005**, *9*, 1538.

III.2. Un exemple d'enzyme à fer/cuivre : la cytochrome c oxydase

La plupart des oxydases intervenant dans le processus de la respiration appartiennent à la famille des enzymes hème/cuivre. Cette large famille de métaux-enzymes peut être divisée en cytochrome c oxydase et en quinone oxydase, en fonction de l'identité du donneur d'électrons. Nous nous intéresserons aux cytochromes c oxydases et plus particulièrement au site binucléaire Fe/Cu capable de lier O₂ et de couper la liaison O-O de façon réductive.

III.2.1. Structure et fonction

Les enzymes terminales hème/cuivre sont des protéines transmembranaires, acceptrices finales des électrons de la chaîne respiratoire chez les bactéries et les mitochondries des eucaryotes. Elles catalysent la réduction de O₂ en H₂O sans libération de substances toxiques, comme les peroxydes et les superoxydes, selon la réaction suivante :



Cette réaction exergonique est couplée à une translocation de protons entre l'intérieur et l'extérieur de la membrane mitochondriale du cytoplasme. Pendant la réduction de O₂, huit protons rejoignent la membrane. Quatre d'entre eux sont utilisés pour générer les deux molécules d'eau, les quatre autres sont relâchés à l'extérieur de la membrane. Ce gradient de protons est utilisé par l'ATP synthase pour convertir l'ADP et le phosphate inorganique en ATP, source d'énergie des systèmes biologiques.

Les premières structures cristallographiques de cytochrome c oxydase ont été découvertes quasi simultanément en 1995.⁶³ Il s'agit des structures résolues à 2,8 Å de la cytochrome c oxydase à l'état oxydé de la bactérie, *Paracoccus denitrificans* et de l'état oxydé de la cytochrome c oxydase de cœur de boeuf (**Figure 19**). Cette dernière sera suivie plus tard de structures⁶⁴ à l'état oxydé et réduit, liées avec de petites molécules (azide et CO) à 2,35 Å, 2,8

⁶³ a) Iwata, S.; Ostermeier, C.; Ludwig, B.; Michel, H. *Nature* **1995**, 376, 660. b) Tsukihara, T.; Aoyama, H.; Yamashita, E.; Tsumizaki, T.; Yamaguchi, H.; Shinzawa-Itah, K.; Nakashima, R.; Yanai, R.; Yonekura, S. *Science* **1995**, 269, 1069.

⁶⁴ Yonekura, S.; Shinzawa-Itah, K.; Nakashima, R.; Yanai, R.; Yamashita, E.; Inoue, N.; Yanai, M.; Fei, M.; Libeu, C. P.; Mizushima, T.; Yamaguchi, H.; Tsumizaki, T.; Tsukihara, T. *Science* **1998**, 280, 1723.

Å et 2,9 Å. La résolution de cette enzyme sera améliorée à 1,8 Å pour l'état oxydé et 1,9 Å pour l'état réduit.⁶⁵

Ces travaux ont mis en évidence que le cytochrome *c* oxydase de coeur de boeuf est une protéine membranaire de 200 kD constitué de treize sous-unités. La sous-unité II contient un centre rédox actif à de deux atomes de cuivre, pontés par deux ligands thiolates de cystéines. La distance Cu-Cu est de 2,58 Å et la sphère de coordination est complétée par une histidine. Ce site Cu_A est l'accepteur initial d'électrons du cytochrome *c*. La sous-unité I comprend un site cuivrique et deux hèmes *a* et *a*₃. Ces hèmes sont connectés via leurs histidines distales et formant un angle interplanaire de 104 ° avec une distance Fe-Fe de 13,4 Å. L'hème *a* est hexacoordiné avec deux ligands histidine, alors que l'hème *a*₃ est pentacoordiné.

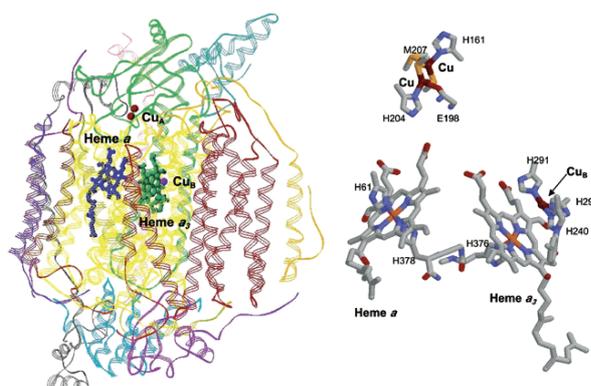


Figure 19: structure générale de la cytochrome *c* oxydase de coeur de boeuf (gauche) où la sous-unité I est en jaune et la sous-unité II en verte (PDB 10CR). Agrandissement des centres rédox métalliques (droite).

La coordination proximale de l'hème *a*₃ est assurée par une histidine (His 376) et se trouve à proximité du site cuivrique Cu_B, formant un centre binucléaire pour la coordination et la réduction du dioxygène (**Figure 20**). Cu_B est chélaté par trois histidines, His 290, His 291 et His 240, dont la dernière est liée de manière covalente à une tyrosine (Tyr 244). La distance entre les deux sites métalliques dépend du degré d'oxydation des métaux et varie de 4,9 Å à 5,3 Å.

⁶⁵ Tsukihara, T.; Shimokata, K.; Katayama, Y.; Shimada, H.; Muramoto, K.; Aoyama, H.; Mochizuki, M.; Shinzawa-Itoh, K.; Yamashita, E.; Yao, M.; Ishimura, Y.; Yoshikawa, S. *Proc. Nat. Acad. Sci.* **2003**, *100*, 15304.

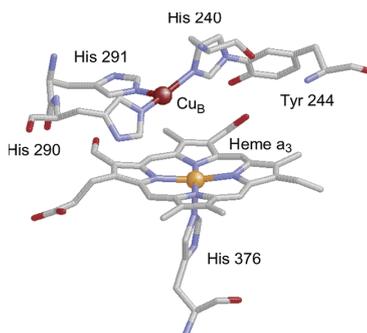


Figure 20 : structure du site actif de la cytochrome *c* oxydase de coeur de boeuf (PDB 10CR).

Pendant la respiration, les électrons sont générés par NADH et FADH₂ et sont ensuite transportés vers le site de réduction de O₂ par une série de transporteurs d'électrons de la membrane des mitochondries. Pendant le cycle catalytique, le cytochrome *c* fournit les électrons nécessaires, qui passent d'abord par le complexe de cuivre Cu_A, puis sont transférés à l'hème *a* avant que ce dernier ne les achemine vers le site binucléaire hème a₃-Cu_B de l'enzyme.⁶⁶ Le mécanisme de réduction du dioxygène met en jeu plusieurs intermédiaires qui, malgré l'utilisation de techniques de plus en plus perfectionnées, comportent encore des zones d'ombre.

Un moyen de les éclaircir, consiste à mettre au point des complexes binucléaires synthétiques reproduisant la fonction du site actif, et de comprendre comment la structure régit la réactivité de l'enzyme.

III.2.2. L'élaboration de modèles biomimétiques

À travers la littérature, on distingue deux familles de modèles de cytochromes *c* oxydase :

- les modèles structuraux qui reproduisent un état particulier du site actif de l'enzyme et qui sont surtout utilisés pour l'étude des interactions entre le dioxygène et le site hème-cuivre.
- les modèles fonctionnels qui tentent de reproduire la réduction à quatre électrons du dioxygène et qui sont destinés aux études électrocatalytiques.

Bien qu'il soit inconcevable de séparer ces deux familles, car un bon nombre de modèles structuraux sont aussi des modèles fonctionnels, nous nous intéresserons à l'évolution des modèles fonctionnels développés par Collman. Ces complexes, de conception très proche, sont constitués d'une porphyrine de fer rattachée à des ligands azotés pour la complexation du cuivre sur la face distale.

⁶⁶ Kim, E.; Chufan, E. E.; Kamaraj, K.; Karlin, K. D. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 1077.

C'est en 1994, que Collman *et al*⁶⁷ ont décrit leur premier modèle de cytochromes *c* oxydase superstructuré. Il s'agit d'une porphyrine de fer coiffée d'un chapeau triazacyclononane (TACN) offrant une chélation tridentate au cuivre, de façon similaire aux systèmes naturels (**Figure 21**). La coordination de la base axiale, du 1,5-dicyclohexylimidazole sur le fer, se fait en solution. En présence de dioxygène, il se forme un adduit irréversible de stoechiométrie 1 :1 dont les études en spectroscopie Raman ont mis en évidence la présence d'un pont peroxy $\text{Fe}^{\text{III}}-(\text{O}_2^{2-})-\text{Cu}^{\text{II}}$. La réduction de cet adduit nécessite quatre équivalents de cobaltocène, soit quatre électrons pour régénérer l'espèce désoxygénée. À l'inverse, en l'absence de cuivre, la fixation de O_2 est réversible. Cette différence de comportement implique que le cuivre joue un rôle défini dans la liaison de O_2 .⁶⁸

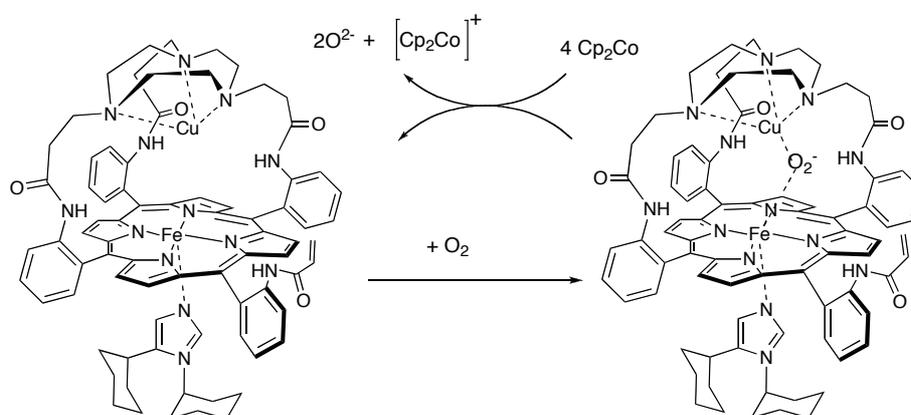


Figure 21: modèle à chapeau TACN avec une base exogène.

D'autres analogues de cytochromes *c* oxydase ont ensuite été synthétisés et caractérisés.⁶⁹ Ces modèles sont marqués par l'introduction d'une base axiale de type imidazole liée de manière covalente à la partie porphyrinique. De plus, pour l'un des modèles présentés ci-dessous (**Figure 22**), le chapeau TACN a été remplacé par un chapeau tribenzyltris(aminoéthyl)amine (TBTren).

⁶⁷ Collman, J. P.; Herrmann, P. C.; Boitrel, B.; Zhang, X.; Eberspacher, T. A.; Fu, L. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 9783.

⁶⁸ Collman, J.P. *Inorg. Chem.* **1997**, *36*, 5145.

⁶⁹ Collman, J. P.; Fu, L.; Herrmann, P. C.; Wang, Z.; Rapta, M.; Bröring, M.; Schwenniger, R.; Boitrel, B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 3397.

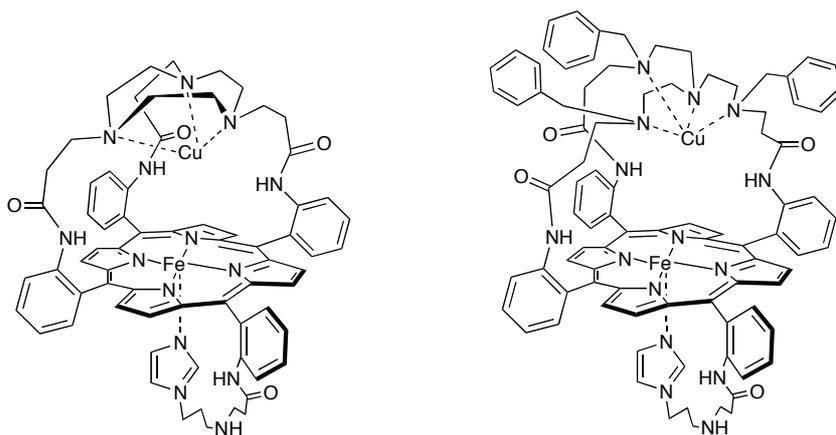


Figure 22: modèles avec base axiale embarquée. Chapeau TACN à gauche, et TBTren à droite.

Ces composés forment tous les deux un adduit irréversible en présence d'oxygène de stoechiométrie 1 : 1 mis en évidence par spectroscopie UV-visible. Comme précédemment, le fer de l'hème et le cuivre sont reliés par un pont peroxy $\text{Fe}^{\text{III}}-(\text{O}_2^{2-})-\text{Cu}^{\text{II}}$. Dans les deux cas, le cobaltocène peut réduire les adduits oxygénés en forme désoxygénée. Le complexe à chapeau TACN nécessite deux équivalents de cobaltocène pour régénérer le produit de départ, alors que le composé à chapeau TBTren en nécessite quatre, comme ce qui est observé en électrocatalyse. Cela peut s'expliquer par l'effet de la structure distale sur le potentiel $\text{Cu}^{\text{I}}/\text{Cu}^{\text{II}}$. En effet, l'architecture TACN flexible, où le cuivre (I) est coordonné par trois atomes d'azote, rend l'état oxydé Cu^{II} moins stable que l'architecture TBTren moins flexible mais plus encombrée avec quatre atomes d'azotes. Ces résultats démontrent la sensibilité de l'état peroxy à la nature de la superstructure distale et surtout le rôle important du potentiel rédox du cuivre qui induit la réduction tétraélectronique ou diélectronique de l'oxygène.

La question du rôle joué par le cuivre dans les modèles lors de la réduction du dioxygène a soulevée, notamment suite aux travaux du groupe de Boitrel *et al*⁷⁰. L'analyse d'un modèle fonctionnel possédant un site de complexation du cuivre de type tris(2-aminoéthyl)-amine et dont la coordination proximale est assurée par une base axiale exogène (**Figure 23**), a mis en évidence une activité électrocatalytique plus efficace en présence de fer uniquement. Ces résultats montrent ainsi que la présence de cuivre ne semble pas être un pré requis pour obtenir une activité à 4 électrons dans des conditions physiologiques.

⁷⁰ a) Ricard, D.; Andrioletti, B.; L'Her, M.; Boitrel, B. *Chem. Commun.* **1999**, 1523. b) Ricard, D.; Didier, A.; L'Her, M.; Boitrel, B. *C. R. Chimie* **2002**, 5, 33.

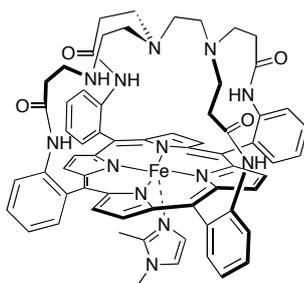


Figure 23 : modèle de Boitrel à chapeau Tren.

À travers un modèle à fort caractère « biomimétique », Collman *et al*⁷¹ ont mis en évidence le rôle joué par la tyrosine 244. Ce modèle comprend un phénol lié de façon covalente à un imidazole comme donneur de proton et d'électron pour la rupture de la liaison O-O. À partir de ces résultats et des différentes structures cristallines de cytochrome *c* oxydase, ils ont décrit la réduction catalytique à quatre électrons du dioxygène, par le modèle ci-dessous.⁷²

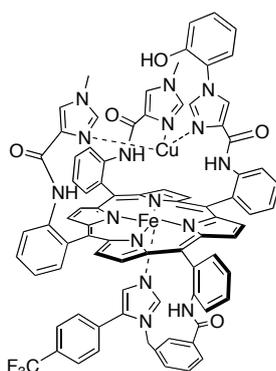


Figure 24: modèle synthétique mimant la tyrosine.

C'est un des meilleurs analogues fonctionnels décrit jusqu'alors, car il possède les imidazoles distaux et les trois centres rédox comme dans la protéine naturelle. Ils ont démontré, que l'étape limitante du cycle catalytique est la fixation de O₂ par le catalyseur, et que le rythme de clivage de la liaison O-O est supérieur à 0,1 s⁻¹.

Dans le même domaine, Coutsolelos *et al*⁷³ ont étudié le modèle fonctionnel 5,10,15,20-tetrakis(2-aminophényl)porphyrine, dont le site de complexation du cuivre est lié à la porphyrine via trois liaisons de type urée. Le quatrième groupement urée permet la liaison au cycle porphyrinique d'un phényle, mime de la Tyr 244. Ce phényle possède une certaine mobilité, et des études RMN ont montré qu'il est orienté vers le centre de la molécule.

⁷¹ Collman, J. P.; Decréau, R. A.; Yoon, J.; Solomon, E. I. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 5794.

⁷² Collman, J. P.; Ghosh, S.; Dey, A.; Decréau, R. A.; Yang, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 5034.

⁷³ Charalambidis, G.; Ladomenou, K.; Boitrel, B.; Coutsolelos, A. G. *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, *8*, 1263.

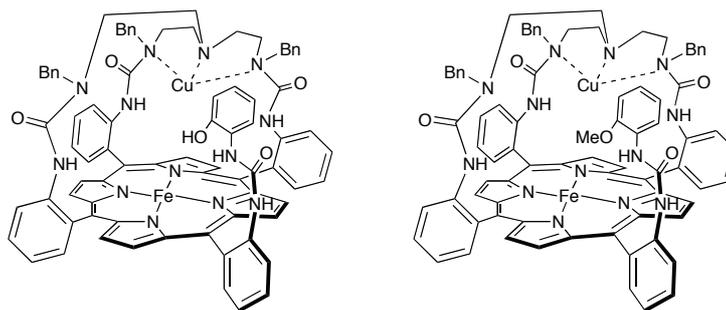


Figure 25 : modèles de Coutsolelos avec l'hydroxy à gauche et le méthoxy à droite.

Le but de ces travaux est d'éclaircir le rôle joué par le groupement hydroxyle du phényle, et plus précisément de déterminer si sa présence est essentielle à la réduction tétraélectronique du dioxygène. Pour cela, des études électrocatalytiques ont été effectuées sur ce composé ainsi que sur le dérivé possédant un méthyle comme groupe protecteur du OH. Tous deux réduisent O_2 en H_2O avec quatre électrons, sans aucune différence de comportement. Par conséquent, le groupement hydroxy ne semble pas participer à la réduction du dioxygène, puisque son activité catalytique et sa stabilité sont inchangées quand il est protégé. De plus ces modèles ont été testés en modèle fer seul. Leur efficacité est similaire voire meilleure qu'en présence de fer/cuivre.

Comme nous venons de le voir, il existe de nombreux modèles de cytochrome c oxydase dans la littérature. Cependant il reste encore beaucoup de controverses quant au rôle exact joué par Cu_B et par la Tyr 244, mais aussi dans la nature exacte des espèces intermédiaires du cycle catalytique.

IV. Objectifs

Les 40 dernières années ont permis de mieux comprendre le fonctionnement des enzymes dans leur état naturel et les relations « structure-réactivité » qui régissent les propriétés de leurs modèles synthétiques. Ces modèles sont tous constitués d'une porphyrine de fer et font appel à des structures de plus en plus complexes et sophistiquées. Ces architectures doivent avant tout éviter l'oxydation irréversible de la porphyrine. Pour cela, des « piquets », « chapeau » ou « anse » sont introduits sur la périphérie du cycle porphyrinique.

Inspiré par les modèles décrits dans la littérature, leurs avantages et leurs inconvénients, le laboratoire s'est orienté vers la chimie bioinorganique et la conception de modèles biomimétiques. Ces composés sont basés sur l'utilisation d'une porphyrine à anse phénanthroline, la **Porphen**, ayant l'avantage de posséder deux faces proximales et distales différenciées comme on peut le distinguer sur la figure ci-dessous, où le site distal prédéfini est occupé par deux molécules d'eau.

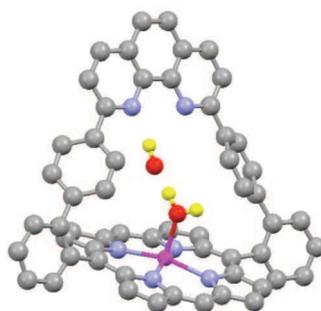


Figure 26: structure cristallographique de la **Porphen** de zinc.

Mettant à profit l'efficacité de la synthèse de cette porphyrine superstructurée,⁷⁴ le premier modèle d'hémoprotéine envisagé dans ce travail est celui du cytochrome P450. Le but est de parvenir à l'élaboration d'une porphyrine à double anse avec introduction de chiralité en périphérie (**Figure 27**). Les modèles décrits jusqu'à alors possèdent tous une chiralité introduite soit dans une anse, soit sur des groupements périphériques. Cette distinction confère des propriétés différentes à chaque type de catalyseur obtenu. Dans le cas de composés à groupements périphériques, on observe généralement des systèmes catalytiques ayant des turnovers élevés,⁵⁷ mais avec des excès énantiomériques variables.⁵⁶ Ces variations dépendent en général de l'encombrement stérique autour de la porphyrine.

Les modèles dont l'une des faces est protégée par une anse peuvent être classés en deux catégories. Dans la première, l'anse chirale est située à 5 Å de l'ion métallique. Les excès énantiomériques peuvent alors atteindre jusqu'à 74 % pour l'époxydation de l'*ortho*-nitrostyrène mais avec des turnovers faibles en raison de l'encombrement du site actif.⁷⁵ Lorsque l'anse chirale est plus éloignée, la cavité est plus grande, les excès énantiomériques chutent, jusqu'à 13

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

⁷⁵ Collman, J. P.; Lee, V. G.; Zhang, X.; Ibers, J. A.; Brauman, J. I. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 3834.

% pour le styrène, avec une durée de vie du catalyseur qui dépend fortement des conditions d'oxygénation, car la protection du site actif par l'anse est moins efficace.⁷⁶

L'avantage de notre nouveau modèle est qu'il combine ces deux types de fonctionnalité : (i) une anse proche du site métallique (5Å) et (ii) des groupements chiraux introduits via les groupements *meso* aryls de la porphyrine. On s'attend donc à obtenir un catalyseur efficace, tant en termes de stéréosélectivité, qu'en stabilité et durée de vie.

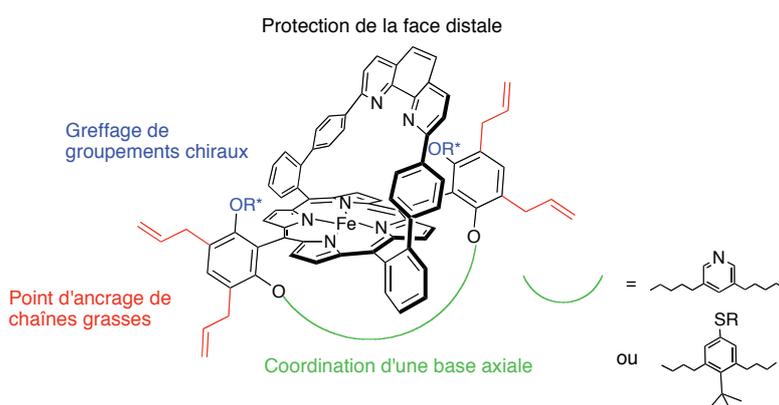


Figure 27: modèle cible du cytochrome P450.

L'anse du bas permet la protection de la face proximale et la coordination de la base axiale. Cette base peut être constituée soit d'un dérivé soufré mimant la cystéine du système naturel, soit d'une pyridine. Dans le premier cas, l'étude d'époxydation d'oléfines pourrait se faire avec du dioxygène, alors que le second cas nécessiterait la présence d'un donneur d'oxygène « activé » de type PhIO. Enfin, l'objectif final de ce projet est l'introduction de cette structure dans des vésicules via des groupements allyles. On obtiendrait ainsi un catalyseur encapsulé dans des structures à base de polymère d'un grand intérêt pour l'oxydation de substrats en milieu aqueux.

Par ailleurs, un modèle de myoglobine a été envisagé (Figure 28). Celui-ci repose sur la fonctionnalisation d'une des positions *meso* de la **Porphen**, pour l'introduction d'un bras pyridinique comme base axiale. Les modèles efficaces de myoglobine doivent discriminer le CO en faveur de O₂. Pour cela, il faut défavoriser la géométrie linéaire de la liaison Fe-CO. L'une des possibilités est l'introduction de gêne stérique dans la cavité par méthylation d'un des atomes d'azote de l'anse phénanthroline.

⁷⁶ Collman, J. P.; Zhang, X.; Hembre, R. T.; Brauman, J. I. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 5356.

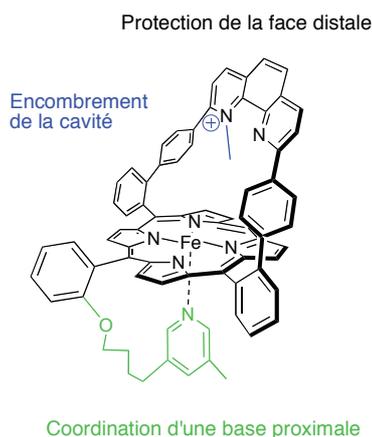


Figure 28 : modèle cible de myoglobine.

En parallèle, un autre complexe a été conçu pour médéliser le site actif de la cytochrome *c* oxydase. Cette partie du travail fait suite aux travaux successifs des Drs Frédéric Melin et Mamadeu Le qui ont préparé et étudié les deux premières générations de modèles de cet enzyme^{77, 78} (**Figure 29**). Ces complexes, fermés à partir de la **Porphén**, possèdent deux sites de coordination, l'un pour le fer, l'autre pour le cuivre. Les études préliminaires réalisées sur la première génération de modèles,^{77,79} avaient mis en évidence les avantages de ces édifices et particulièrement l'efficacité de leur synthèse. Néanmoins quelques difficultés avaient aussi été identifiées :

- assez faible solubilité en milieu organique, pratique en apertique
- réduction tétraélectronique de l'oxygène ne nécessitant pas la présence de cuivre.

Afin d'améliorer le fonctionnement de ces systèmes, une deuxième génération de modèles a été obtenue.^{78,80} La synthèse de ces complexes est un peu plus délicate que dans le cas des modèles du Dr Melin, en raison de réactions de Claisen dont la reproduction est aléatoire. Cependant, ces modifications structurales sur le squelette **Porphén**, ont permis d'augmenter la solubilité des complexes en milieu organique. Ceux-ci ont ensuite été étudiés en modèle fer seul et fer/cuivre, montrant une réduction à quatre électrons de O₂ plus efficace pour le système bimétallique. On peut toutefois noter encore quelques inconvénients :

⁷⁷ a) Melin, F.; Cheua, S.; Bernard, M.; Turek, P.; Weiss, J. *J. Org. Chem.* **2006**, *45*, 10750. b) Melin, F.; Boudon, C.; Lo, M.; Schenk, K. J.; Bonin, M.; Ochsenbein, P.; Gross, M.; Weiss, J. *J. Porphyry's Phthalocyanines* **2007**, *11*, 212.

⁷⁸ Lo, M.; Mahajan, D.; Wytko, J. A.; Boudon, C.; Weiss, J. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 2487.

⁷⁹ Melin, F. *Thèse ULP Strasbourg* **2005**.

⁸⁰ Lo, M. *Thèse UDS Strasbourg* **2009**.

- une géométrie hexacoordinée inattendue des complexes de fer (II) lors de la réduction des complexes de fer (III) par la dithionite de sodium, empêchant la fixation de O₂.
- Problèmes de tension au niveau des bras pyridiniques. Les bras se révèlent labiles en présence de ligands exogènes de type imidazole.

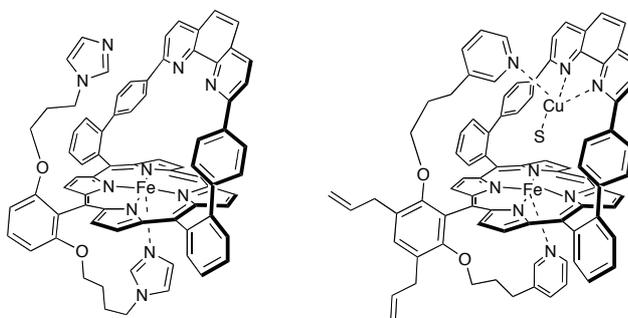


Figure 29 : modèles du Dr Melin (à gauche) et du Dr Lo (à droite).

Pour contourner ces problèmes, le nouveau modèle cible (**Figure 30**) possède un ligand auxiliaire du cuivre plus encombré, ainsi que deux bras pyridiniques découplés sur les deux positions *meso* de la porphyrine. Dans un premier temps, l'introduction d'un méthyle en position 3 de la pyridine pourrait créer de la gêne stérique avec l'anse phénanthroline et ainsi éviter la géométrie hexacoordinée autour du fer (II) lors de la réduction du fer (III). Dans un second temps la chaîne alkyle des deux bras pendants a été rallongée d'un atome de carbone. Comme nous le verrons plus tard, cette modification rend le système plus souple et évite les soucis de tension au sein de la molécule en présence de bases exogènes.

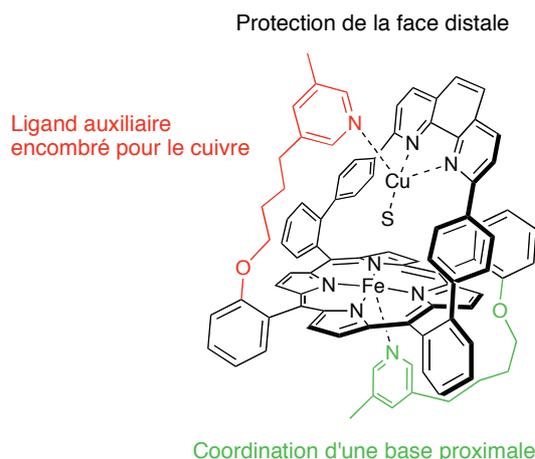


Figure 30 : modèle cible de cytochrome *c* oxydase.

Les différentes approches et stratégies synthétiques de tous ces modèles cibles seront décrites dans le chapitre suivant.

CHAPITRE II :

Variations autour d'une porphyrine à anse

I. Généralités sur les porphyrines	43
I.1. Structure de base et nomenclature.....	43
I.2. Géométrie du cycle.....	44
I.3. Caractéristiques spectrales.....	45
I.4. Spectroscopie RMN du proton.....	45
II. Synthèses de porphyrines à anse phénanthroline comme modèles d'hémoprotéines	46
II.1. La Porphén comme synthon de départ.....	46
II.2. Élaboration de modèles de cytochrome P450.....	48
II.2.1. <i>Fonctionnalisation de la Porphén</i>	48
II.2.1.a) Synthèse.....	48
II.2.1.b) Caractérisation des produits 11 et 12	51
II.2.2. <i>Synthèse de l'anse soufrée</i>	52
II.2.3. <i>Mise au point de l'anse pyridinique</i>	54
II.2.3.a) Espaceur à trois atomes de carbone.....	54
II.2.3.b) Espaceur à quatre atomes de carbone.....	56
II.2.4. <i>Autres approches</i>	58
II.2.4.a) Synthèse à partir d'un dipyrrolylméthane substitué.....	58
II.2.4.b) Greffage des phénols sur l'anse phénanthroline.....	60
II.2.5. <i>Récapitulatif</i>	61
II.3. Modèles d'hémoprotéines à bras pyridinique.....	62
II.3.1. <i>Modèle de myoglobine</i>	62
II.3.1.a) Synthèse.....	63
II.3.1.b) Caractérisation de [50Zn^{II}].....	65
II.3.1.c) Perspectives.....	66
II.3.2. <i>Modèle du site actif de la cytochrome c oxydase</i>	67
II.3.2.a) Synthèse de l'intermédiaire [53Zn^{II}].....	67
II.3.2.b) Greffage des bras pyridiniques.....	68
III. Conclusion	69

Chapitre II : variations autour d'une porphyrine à anse

Ce chapitre est consacré à l'élaboration de nouvelles porphyrines à anse phénanthroline superstructurées et aux différentes stratégies synthétiques employées. Dans un premier temps, quelques caractéristiques de ces macrocycles tétrapyrroliques sont présentées. Elles sont destinées à la compréhension des caractérisations et des comportements spectroscopiques des modèles décrits dans les chapitres suivants.

I. Généralités sur les porphyrines

Les propriétés structurales et physico-chimiques des porphyrines ont fait l'objet de très nombreuses études.⁸¹ Nous rappelons ici leurs principales caractéristiques physico-chimiques.

I.1. Structure de base et nomenclature

Les porphyrines sont constituées de quatre unités pyrroliques reliées entre elles par des ponts méthènes. Le macrocycle est un système aromatique plan à 22 électrons π dont 18 participent à l'aromaticité conformément à la règle de Hückel. Cette forte conjugaison est à l'origine de leur très grande stabilité et de leur absorption intense dans l'UV-visible. Les protons de cœur des porphyrines sont labiles et peuvent par déprotonation former une porphyrine dianionique. Celle-ci peut être stabilisée par des métaux (Zn(II), Mg(II), Co(II), Fe(III)...). On parle alors de métalloporphyrine. Trois types principaux d'atomes de carbone peuvent être distingués dans ces molécules, que l'on note respectivement α , β et *meso*. La plus simple des porphyrines appelée porphine est représentée sur la **Figure 31**. Les atomes de carbone ont été numérotés selon la nomenclature de l'IUPAC.

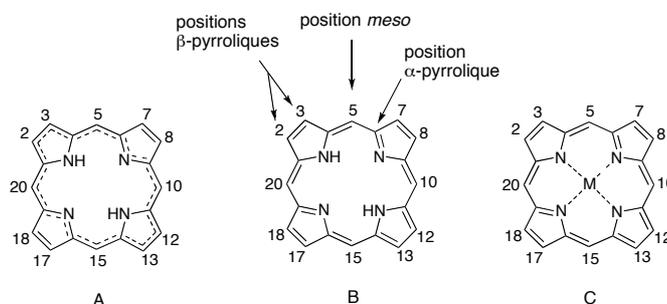


Figure 31: A- électrons impliqués dans l'aromaticité ; B- porphyrine base libre ; C- métalloporphyrine.

⁸¹ Kadish, K. M.; Smith, K. M.; Guillard, R. *Porphyrin Handbook 2000*, Academic Press.

Les porphyrines sont nommées selon les substituants portés par les atomes de carbone β ou *meso* et par la nature du métal complexé par le macrocycle. Deux exemples classiques de métalporphyrines substituées sont représentés sur la **Figure 32**. La première est substituée en position *meso* (**meso tétraphénylporphyrine** de zinc) et la deuxième en positions β -pyrroliques (**Octaéthylporphyrine** de zinc).

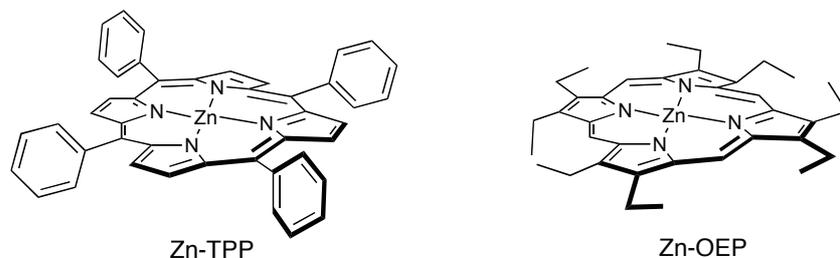


Figure 32: deux exemples classiques de métalporphyrines.

1.2. Géométrie du cycle

Le macrocyle porphyrinique de géométrie plane est relativement flexible. La substitution par des groupements volumineux en position *meso* et/ou β , la métallation, la protonation des deux azotes ou la présence de ligands axiaux, sont autant de facteurs qui peuvent entraîner la distorsion du macrocyle porphyrinique.⁸²

Des études structurales en phase solide ont mis en évidence l'existence de différentes conformations possible pour ce macrocyle (**Figure 33**).⁸³

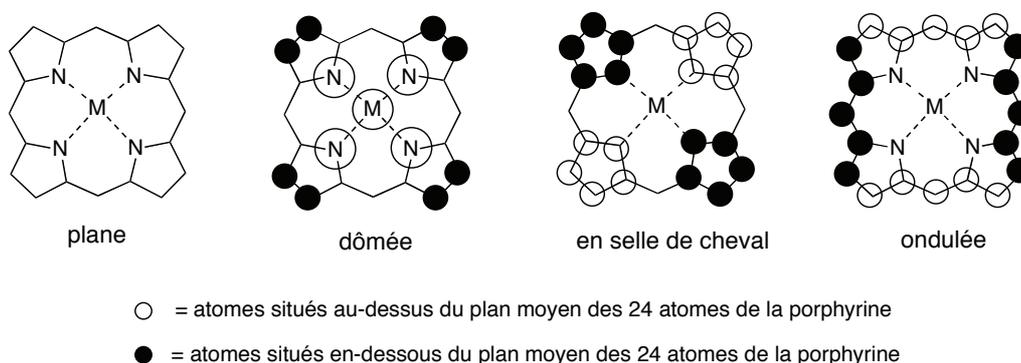


Figure 33 :déformations possibles des porphyrines.

⁸² Cullen, D. L.; Meyer, E. F.; Smith, K. M. *Inorg. Chem.* **1977**, *16*, 1179.

⁸³ Scheidt, W. R.; Lee, Y. J. *In Structure and Bonding* **1987**, *64*, 1.

I.3. Caractéristiques spectrales

En raison de leur aromaticité étendue, les porphyrines sont fortement colorées et absorbent dans le visible. Elles présentent deux types d'absorption attribuées à des transitions $\pi \rightarrow \pi^*$:

- une bande très intense ($\epsilon > 10^5 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) située entre 380 et 450 nm, appelée bande de Soret ou bande B.
- une série de bandes Q, moins intenses ($\epsilon \sim 10^4 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) mais responsables de la couleur des porphyrines. Les bases libres D_{2h} présentent quatre bandes Q, alors que les métalloporphyrines D_{4h} n'en ont que deux.

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

I.4. Spectroscopie RMN du proton

En raison de leur forte aromaticité, les porphyrines, comme tous les composés aromatiques, possèdent un courant de cycle important. Cette circulation d'électrons génère un champ magnétique occupant un volume spatial assez grand pour influencer le blindage des protons sur le macrocycle porphyrinique. Un cône d'anisotropie est ainsi généré (**Figure 34**).

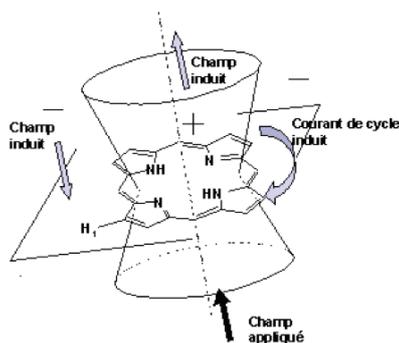


Figure 34: cône d'anisotropie magnétique d'une porphyrine.

Des spectres RMN très caractéristiques sont observés, où les protons situés à l'intérieur du cône de blindage, comme les NH sont fortement blindés⁸⁴ et ceux situés à l'extérieur, dans le plan de la molécule sont déblindés.

⁸⁴ Kadish, K. M.; Smith, K. M.; Guillard, R. *Porphyrin Handbook* 2000, 5, 1, Academic Press.

II. Synthèses de porphyrines à anse phénanthroline comme modèles d'hémoprotéines

Comme indiqué en fin de chapitre précédent, l'ensemble des nouveaux modèles d'hémoprotéines de ce travail est basé sur l'utilisation de la **Porphe**. Nous aborderons dans un premier temps la synthèse de ce composé, puis les différentes approches synthétiques pour parvenir au modèle du cytochrome P450. Ensuite, nous nous intéresserons à la conception de l'analogue de la myoglobine, et enfin à l'élaboration du modèle de site actif de la cytochrome *c* oxydase.

II.1. La Porphen comme synthon de départ

La porphyrine à anse phénanthroline appelée **Porphe** **6**, a été conçue au laboratoire comme modèle de cytochrome *c* oxydase par J. A. Wytko, E. Graf et J. Weiss.⁷⁴ Elle est obtenue par condensation acido-catalysée en milieu dilué entre un dialdéhyde **4** construit sur la 2,9-bis(*p*-bromophényl)phénanthroline **3**⁸⁵ et le dipyrrométhane **5**,⁸⁶ selon le schéma réactionnel de la **Figure 35**.

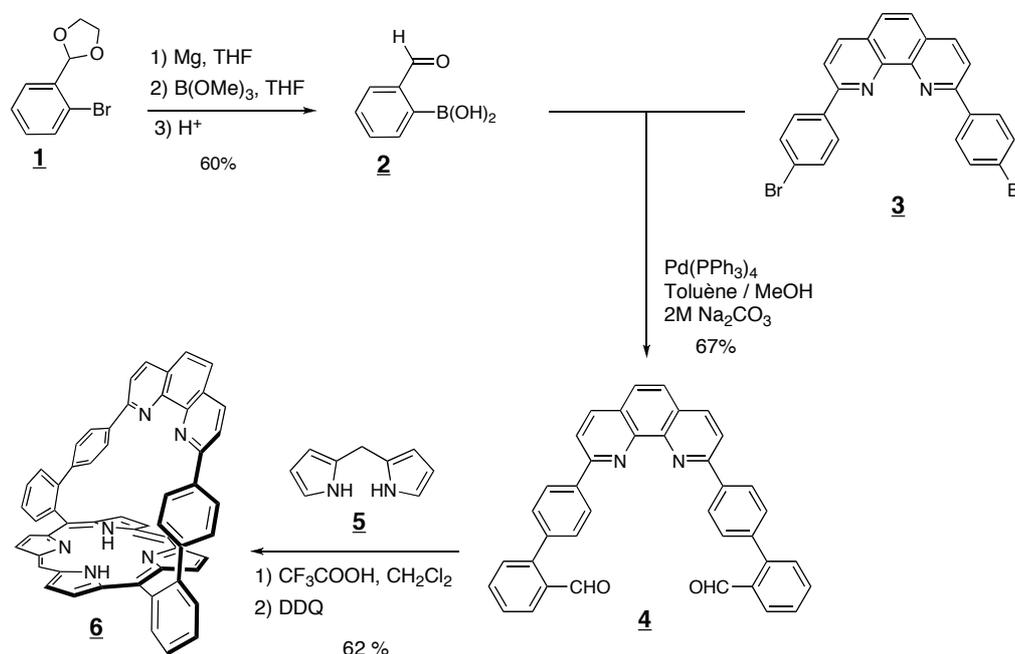


Figure 35: synthèse de la Porphen **6**.

⁸⁵ a) Noblat, S.; Dietrich-Buchecker, C. O.; Sauvage J-P. *Tetrahedron Lett.* **1987**, 28, 5829. b) Dietrich-Buchecker, C. O.; Marnot, P. A.; Sauvage J-P. *Tetrahedron Lett.* **1982**, 23, 5291.

⁸⁶ Wang, Q. M.; Bruce, W. D. *Synlett* **1995**, 12, 1267.

Cette **Porphen** offre l'avantage de pouvoir être obtenue à grande échelle via des procédés de synthèse et de purification simples et efficaces. En effet, le rendement de condensation peut atteindre jusqu'à 70 %, ce qui est exceptionnel pour une porphyrine superstructurée de ce type.

La structure à l'état solide de la Porphen montre que le macrocycle tétrapyrrolique n'est que peu déformé. L'anse phénanthroline est inclinée au-dessus du plan de la porphyrine d'un angle dièdre proche de 65°, tandis qu'en solution et notamment en RMN, aucune dissymétrie n'est observée.⁸⁷ La distance entre le centroïde des quatre azotes pyrroliques et le centroïde des deux azotes de la phénanthroline vaut 6,62 Å. Dans le cas du complexe hétérodinucléaire [Zn(II)-Porphen-Cu(I)(CH₃CN)₂]BF₄ (**Figure 36**), la distance interatomique entre les atomes de zinc et de cuivre est plus courte et vaut 5 Å. Cette valeur est à la fois, dans la gamme des anses proches pour les modèles de cytochrome P450, mais aussi des distances métal-métal du site acif de la cytochrome *c* oxydase (4,4-5,3 Å).

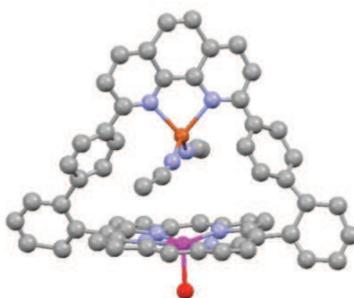


Figure 36 : structure du complexe bimétallique [Zn(II)-Porphen-Cu(I)(CH₃CN)₂]BF₄.⁸²

L'étude approfondie de la coordination axiale de la **Porphen** métallée au zinc conduit à des résultats originaux dus à la présence de la phénanthroline.⁸⁸ En effet, la complexation *in situ* de bases azotées n'est pas similaire pour tous les dérivés d'imidazole utilisés. Avec les imidazoles N-substitués, des complexes de type proximal sont observés et les substrats sont coordonnés au zinc sur la face dégagée de la métalloporphyrine. À l'inverse, les imidazoles non N-substitués conduisent à des complexes d'inclusion stables, où la coordination se fait sélectivement sur la face la plus encombrée, c'est-à-dire à l'intérieur de l'anse. Cette sélectivité s'explique par la présence d'une liaison hydrogène entre le proton de l'azote de l'imidazole et les deux atomes d'azote de la phénanthroline.

⁸⁷ Froideveaux, J. *Thèse ULP Strasbourg* **1998**.

⁸⁸ Froideveaux, J.; Ochsenbein, P.; Bonin, M.; Schnek, K.; Maltese, P.; Gisselbrecht, J.-P.; Weiss, J. J. *Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 12362.

II.2. *Élaboration de modèles de cytochrome P450*

La stratégie synthétique pour parvenir au modèle cible de cytochrome P450, décrit au chapitre précédent, repose sur l'utilisation de la **Porphen** préalablement fonctionnalisée et d'une anse permettant la coordination de la base axiale. Cette base peut être soit constituée d'un dérivé soufré, soit d'une pyridine. D'autres approches ont également été envisagées modifiant cependant la structure initiale du composé cible.

II.2.1. Fonctionnalisation de la Porphen

Le but est d'obtenir une porphyrine **12** substituée sur les deux positions *meso* par des phényles possédant quatre fonctions hydroxyles et allyles. Deux des groupements –OH servent de point d'ancrage pour l'anse proximale, les deux autres permettent le greffage de substituants chiraux en périphérie de la porphyrine. Enfin les motifs allyles sont prévus pour la fixation de chaînes alkyles qui permettraient de résoudre des problèmes de solubilité inhérents à ces modèles. Ces chaînes grasses sont aussi introduites pour l'incorporation éventuelle de notre modèle dans des membranes artificielles.

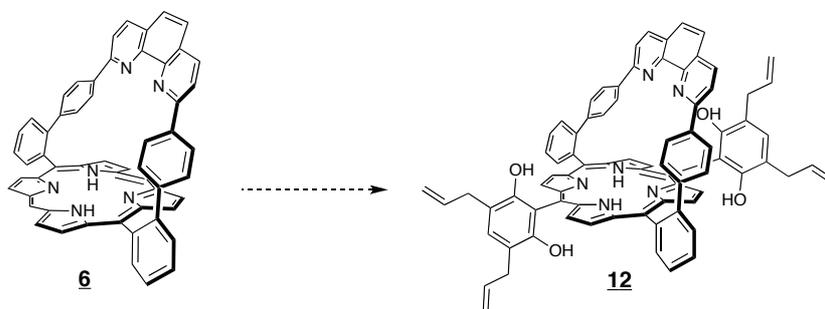


Figure 37 : approche synthétique globale du composé **12** à partir de la Porphen **6**.

II.2.1.a) Synthèse

Un procédé courant pour la substitution des porphyrines en position *meso* est le couplage de Suzuki.⁸⁹ Celui-ci fait intervenir un dérivé halogéné et un acide boronique. Pour cela, la dibromo-**Porphen 8** a été préparée en deux étapes à partir de la **Porphen 6** (Figure 38)⁹⁰. Tout

⁸⁹ Cavaleiro, J. A. S.; Tomé, A. C.; Neves, M. G. P. M. S. *Handbook of Porphyrin Science* **2010**, 2, 209, World Scientific.

⁹⁰ Dharam, P; Melin, F; Hirtz, C; Wytko, J. A; Ochsenbein, P; Bonin, M; Schenk, K; Weiss, J. *Inorg. Chem.* 2003, 42, 3779.

d'abord la **Porphen** est métallée au zinc dans le THF. Le composé **7** obtenu est alors bromé sur les deux positions *meso* en utilisant deux équivalents de *N*-bromosuccinimide (NBS) dans le chloroforme à 0 °C, selon une méthode décrite dans la littérature.⁹¹ Cette bromation fournit un mélange de trois produits : le produit dibromé majoritaire, le produit monobromé et enfin le produit de départ. Après démétallation en milieu acide (acide trifluoroacétique), les trois composés sont séparés par chromatographie sur colonne d'alumine (éluant cyclohexane/dichlorométhane 2 :3 puis 1 :1). On obtient **8** avec 70 % de rendement.

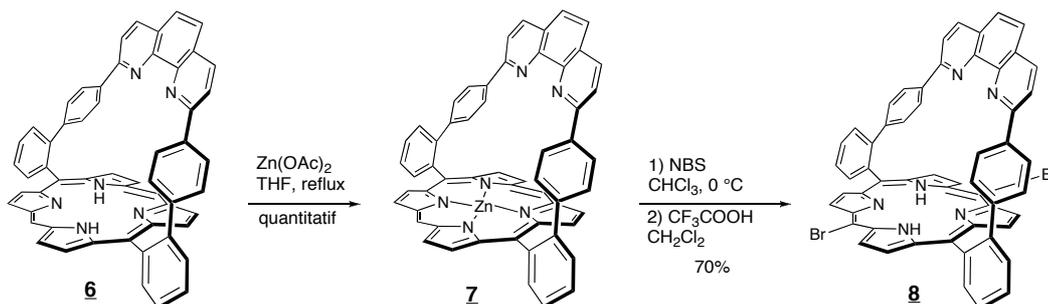


Figure 38 : synthèse de la dibromo-Porphén **8**.

L'acide 2,6-diméthoxyphényle boronique est préparé par piégeage du lithien formé sur le 2,6-diméthoxyphényle avec du triméthylborate, avec un rendement de 70 %. Le double couplage de Suzuki⁹² entre **8** et un excès d'acide 2,6-diméthoxyphényle boronique en présence catalytique de Pd^0 dans le toluène anhydre et en présence de base (K_2CO_3), fournit le composé **9** avec 78 % de rendement (Figure 39)⁹³. Ce rendement est cependant variable. En effet, cette réaction s'accompagne souvent de produit de la réaction de monocouplage et de produit de réduction (Br-Porphén et Porphén respectivement). Le mélange ainsi formé est difficilement purifiable par chromatographie sur colonne.

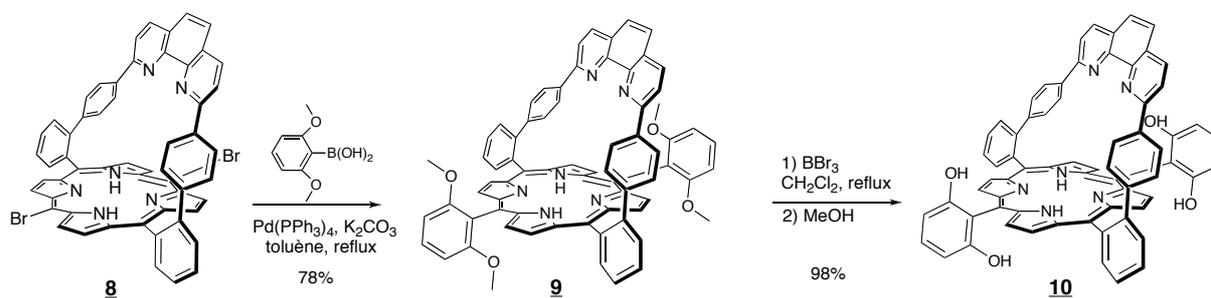


Figure 39 : synthèse du composé **10**.

⁹¹ DiMugno, S. G.; Lin, V. S. Y.; Therien, M. J. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 5983.

⁹² Suzuki, A. *Journal of Organomet. Chem.* **1999**, *576*, 147.

⁹³ Brandel, J; Trabolssi, A.; Melin, F.; Elhabiri, M.; Weiss, J.; Albrecht-Gary, A-M. *Inorg. Chem.* **2007**, *46*, 9534–9536

L'étape suivante consiste à déprotéger les groupements hydroxyles par coupure des fonctions éthers de méthyles de **9**. Cette réaction se fait en présence de BBr₃ dans du dichlorométhane préalablement distillé sur CaH₂. La solution violette au départ se colore en vert et, au bout d'une nuit, la réaction est stoppée par ajout lent de méthanol à température ambiante. Le lavage de la phase organique par une solution basique à 2 M de K₂CO₃ puis par H₂O, permet d'obtenir **10** (**Figure 39**), qui est utilisé pour l'étape suivante sans aucune purification.

L'insertion des fonctions allyles sur le brut de **10** se fait en présence d'un excès de bromure d'allyle (**Figure 40**) avec 72 % de rendement. Il s'agit d'une réaction de substitution nucléophile d'ordre 2 en milieu basique (K₂CO₃), activée par une quantité catalytique d'éther 18-couronne-6 dans l'acétone. L'utilisation de l'éther 18-couronne-6 permet d'exalter la basicité du carbonate de potassium grâce à la complexation du potassium. L'ajout d'une petite quantité d'iodure de sodium permet d'augmenter la labilité du nucléofuge, par formation *in situ* de l'iodure correspondant.

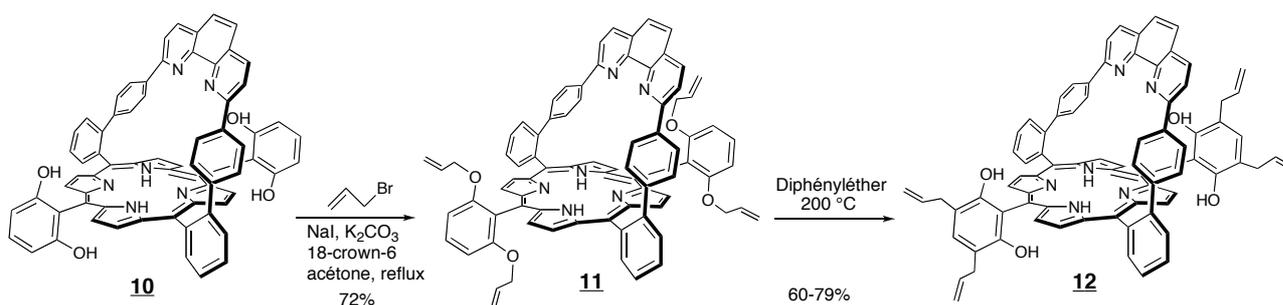


Figure 40 : synthèse du composé **12**.

Enfin, la dernière étape dans la synthèse de **12** permet de libérer les quatre points de fixations prévus, deux pour la base embarquée dans l'anse et deux pour le greffage de substituants chiraux. Simultanément, les quatre chaînes allyles migrent pour former une nouvelle liaison C-C sur la position *meta* du phényle, tout en permettant de conserver une bonne solubilité. Cette transformation multiple est un quadruple réarrangement de Claisen^{78,94} sur **11** dans le diphényléther chauffé à 200 °C. Pour éviter l'oxydation des groupements phénoliques de **6** dans le diphényléther, le mélange réactionnel doit être consciencieusement dégazé et maintenu sous atmosphère inerte (argon) durant toute la durée du chauffage. Le diphényléther

⁹⁴ Lutz, R. P. *Chem. Rev.* **1984**, *84*, 205.

étant solide à température ambiante, il est fondu par chauffage léger pour permettre son dégazage. Après ajout de la porphyrine, le mélange est à nouveau dégazé. La purification est effectuée par chromatographie sur une colonne de silice en y déposant le mélange réactionnel refroidi. L'éluion se fait d'abord avec du cyclohexane pour ôter le diphenyle éther, puis le produit désiré est récupéré au moyen d'un gradient de mélange cyclohexane/acétate d'éthyle. Il faut noter que ce quadruple réarrangement de Claisen sur **11** met en jeu des conditions de réaction rudes et que les rendements restent souvent aléatoires.

II.2.1.b) Caractérisation des produits **11** et **12**

Les deux isomères **11** et **12** ont été caractérisés par RMN du proton. Une rapide comparaison des deux tracés concernant la région aromatique et aliphatique des composés **11** et **12** montre que les changements les plus importants ne concernent que les protons des résorcinol portant les allyles ; les protons du macrocycle porphyrinique et de l'anse restent inchangés.

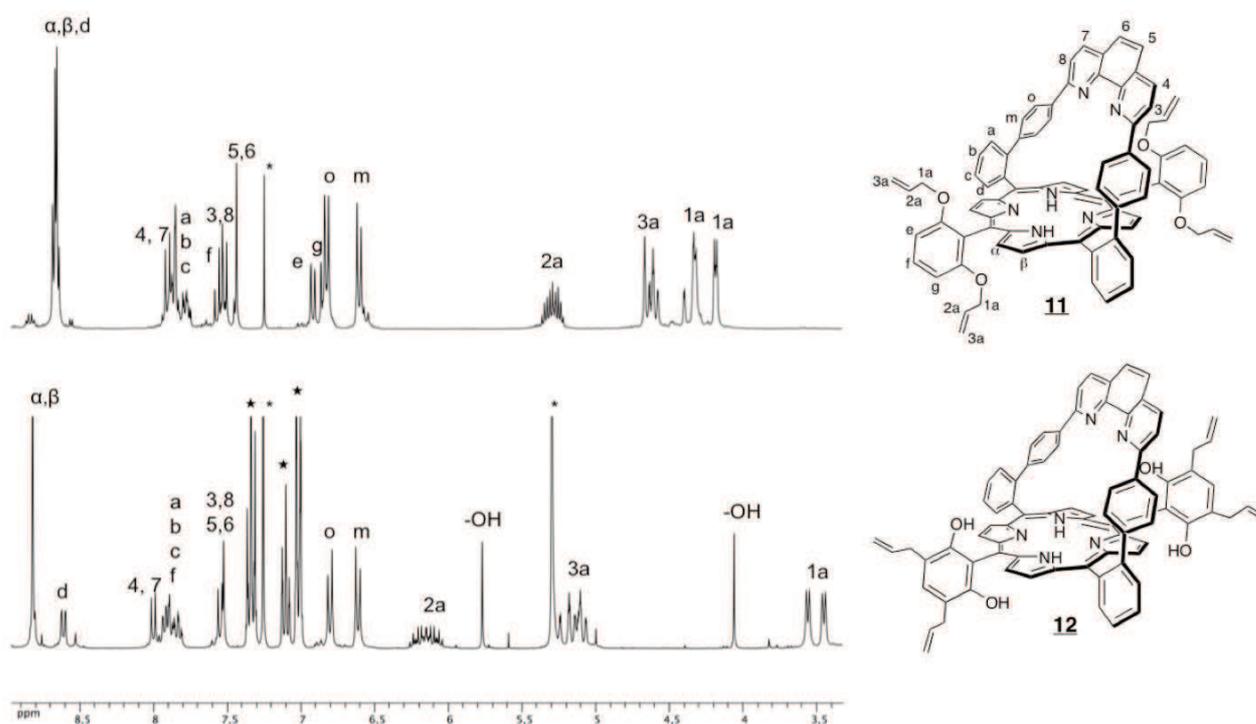


Figure 41 : spectres RMN ^1H 300 MHz des composés **11** et **12** dans du CDCl_3 à 25 °C (* : résidus de solvant, ★ : résidus de diphenyle éther).

	11 δ_1 (ppm)	12 δ_2 (ppm)	$\Delta\delta = \delta_2 - \delta_1$ (ppm)
1a	4,18	3,50	-0,68
1a	4,32	3,50	-0,82
2a	5,28	6,15	0,87
3a	4,59	5,17	0,58

Tableau 2 : tableau comparatif des déplacements chimiques des protons allyliques de **11** et **12**.

II.2.2. Synthèse de l'anse s'ouvrée

Le greffage d'une anse sur **12** doit permettre à la fin la protection de la face proximale et l'introduction d'une base axiale. L'utilisation d'un dérivé s'ouvert permet de mimer la cystéine du système naturel et d'étudier l'épéxydatéon d'éléfines en présence de dixygène.

L'anse **21** (Figure 43) a été mise au point par Weggén *et al*⁹⁵ et synthétisée au laboratoire en huit étapes en collaboration avec le Dr Dinesh Mahajan. La première étape de cette synthèse est une réaction de substitution nucléophile d'ordre 2 du 4-^tbutylphénol **13** sur un excès de bromure d'allyle. Le composé **14** est obtenu avec un rendement de 95 %, qui par réarrangement de Claisen⁹⁶ s'isomérisé en **15**. Ces deux premières étapes sont répétées pour fournir l'intermédiaire *o,o'*-diallylphénol **17** (Figure 42).

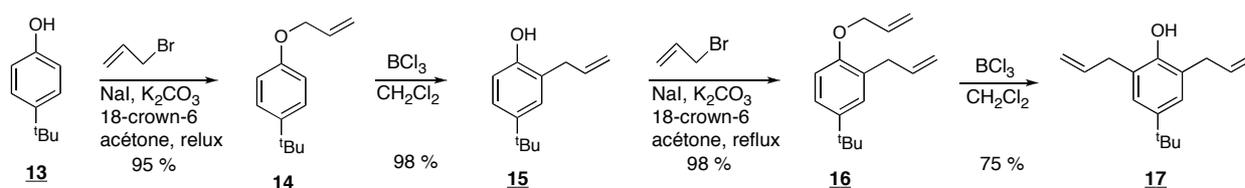


Figure 42 : synthèse du composé *o,o'*-diallylphénol **17**.

Le composé **17** est ensuite traité par du chlorure de *N,N*-diméthylcarbamyle pour donner le composé **18** avec un rendement de 75 %, qui est converti en thiocarbamate **19** par réarrangement de Newman-Kwart⁹⁷ à 280 °C. Les doubles liaisons terminales sont ensuite méthyliées selon des procédures standard⁹⁸ pour fournir le produit final **21** (Figure 43).

⁹⁵ Stäubli B.; Fretz H.; Piantini U.; Weggén W. D. *Helv. Chim. Acta* **1987**, *70*, 1173.

⁹⁶ Itô, F.; Fusegi, K.; Kumamoto, T.; Ishikawa, T. *Synthesis* **2007**, *12*, 1785.

⁹⁷ Newman, M. S.; Karnes, H. A. *J. Org. Chem.* **1966**, *31*, 3980.

⁹⁸ Hertz, J.; Gilani, S. S. *Can. J. Chem.* **1968**, *46*, 86.

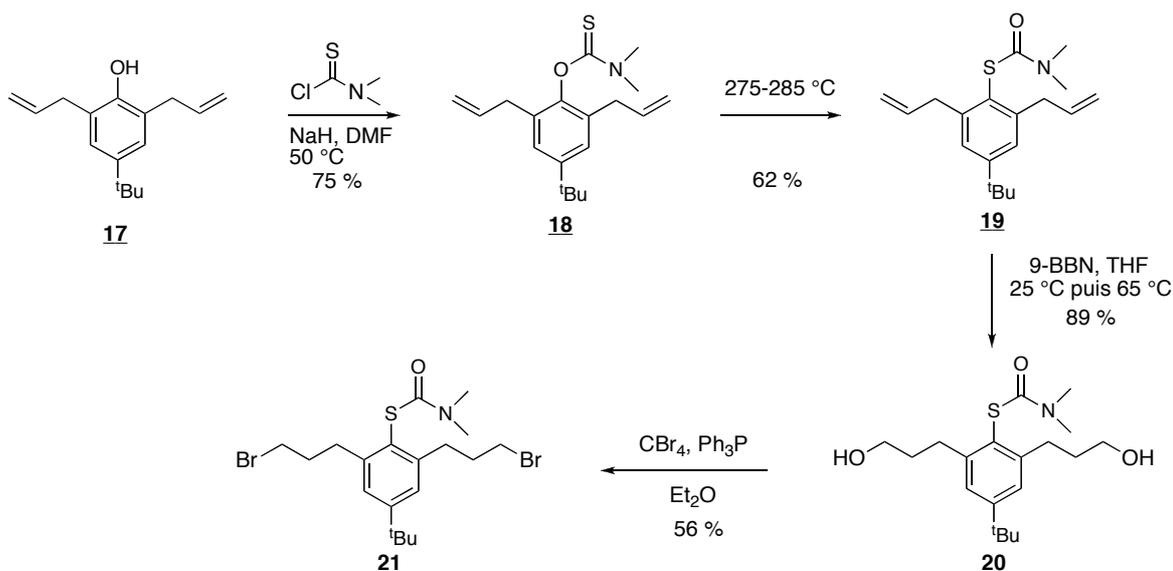


Figure 43 : synthèse de l'anse soufrée **21**.

La condensation entre l'anse **21** et la **Porphen** fonctionnalisée **12** a également été réalisée au laboratoire par le Dr Mahajan. Cette réaction se fait en milieu basique (carbonate de césium) et dans des conditions de haute dilution, selon le schéma réactionnel ci-dessous.

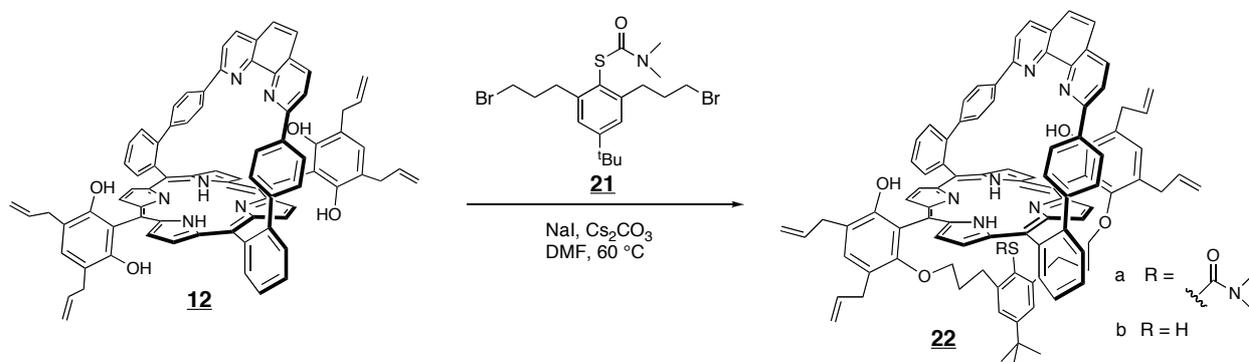


Figure 44 : synthèse du composé **22**.

L'étape suivante est la déprotection du thiol de l'intermédiaire **22a**. Celle-ci n'a cependant pas été fructueuse. Des essais en solution basique de méthanolate de potassium dans un mélange méthanol/dioxane n'ont pas permis d'éliminer le groupement acétamide pour ainsi parvenir au thiol déprotégé, mime de la cystéine. Cet intermédiaire reste néanmoins très intéressant pour la mise au point de modèle de cytochrome P450. Il faut toutefois envisager une approche différente pour la conception de l'anse proximale soufrée.

II.2.3. Mise au point de l'anse pyridinique

Parallèlement à la synthèse de la molécule **21**, un second type d'anse a été envisagé. Celle-ci fait intervenir une pyridine comme base axiale et non plus un dérivé soufré comme précédemment. D'après les modèles développés par le Dr Lo, une longueur de chaîne de trois atomes de carbone pour le bras pyridinique permet une bonne coordination de la pyridine sur le centre métallique de la porphyrine. C'est pourquoi, dans un premier temps, la synthèse d'une pyridine possédant en positions 3 et 5 deux bras de type propyle a été réalisée. Puis, pour des questions de taille et de tension, une nouvelle pyridine avec une longueur de chaîne plus grande a été obtenue.

II.2.3.a) Espaceur à trois atomes de carbone

La réalisation de la première anse pyridinique met en oeuvre une synthèse courte de quatre étapes et efficace, puisque le composé final **27** est obtenu avec un rendement global de 50%. La stratégie synthétique employée (**Figure 45**) permet la fonctionnalisation de la pyridine dès la première étape. En effet, le double couplage de Heck⁹⁹ entre la 3,5-dibromopyridine **23** et l'acrylate d'éthyle en milieu basique en présence d'une quantité catalytique de Pd^{II} fournit le composé **24** avec 90 % de rendement. Lors de la deuxième étape, les doubles liaisons des deux fonctions alcène sont réduites, par hydrogénation en présence de palladium sur charbon. On obtient le composé **25** avec un rendement de 87 %, dont les deux fonctions esters sont réduites à l'aide de LiAlH₄ dans le THF avec un rendement de 75 %.

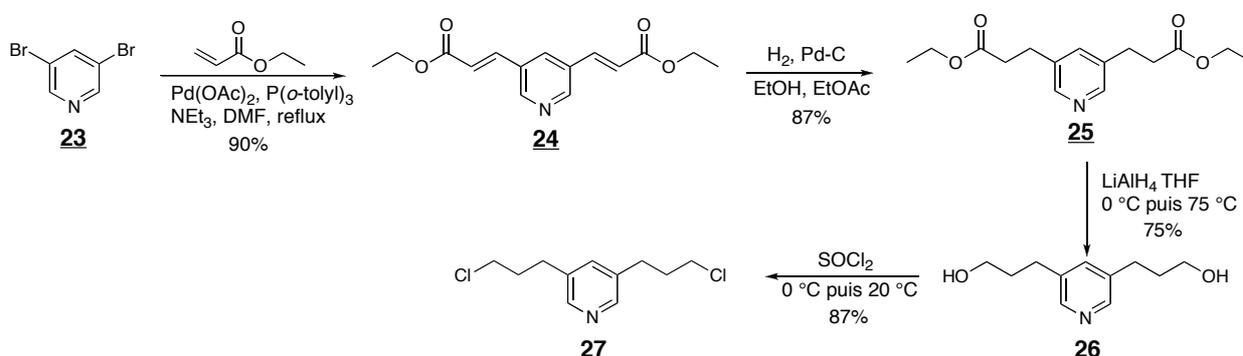


Figure 45 : synthèse de l'anse pyridinique **27**.

⁹⁹ a) Zebovitz, T. C.; Heck, R. F. *J. Org. Chem.* **1977**, *42*, 3907, b) Ziegler, C. B.; Heck, R. F. *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 2941.

L'utilisation d'un réactif de chloration, le chlorure de thionyle, permet de convertir les groupements hydroxyles de **26** en nucléofuges, en vue de la condensation avec la **Porphen** fonctionnalisée **12**.

Le composé **12** a préalablement été métallé au zinc pour fournir la métalloporphyrine **[12Zn^{II}]**^a. Le zinc est utilisé ici dans l'espoir de bénéficier d'un effet de matrice. En effet, il permet d'orienter l'approche de la pyridine sur la face proximale de **[12Zn^{II}]**. La condensation entre **[12Zn^{II}]** et **27** (Figure 46) est réalisée en présence de carbonate de césium, avec addition de l'anse pyridinique sur la porphyrine en solution dans le DMF à $3 \cdot 10^{-3} \text{ M}^{-1}$ pendant une durée de 12 heures. Il s'agit d'une double substitution nucléophile d'ordre 2, et l'ajout d'une quantité catalytique d'iodure de sodium permet d'augmenter la labilité du nucléofuge.

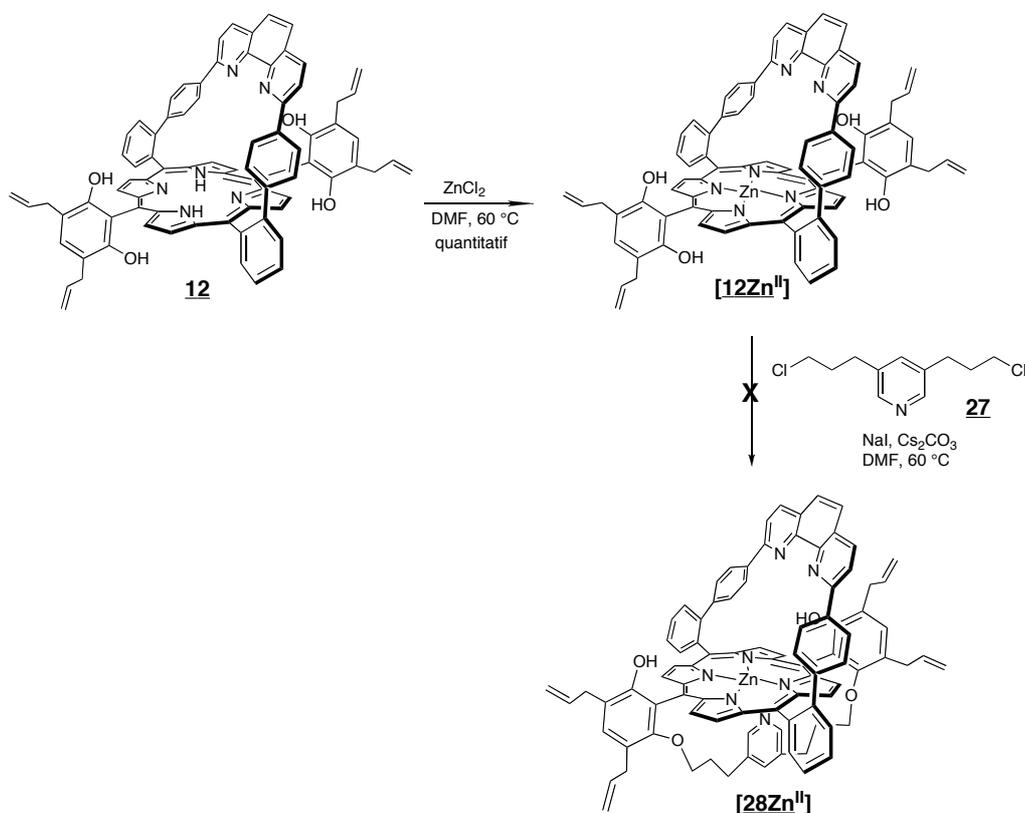


Figure 46 : échec de la synthèse de **[28Zn^{II}]**.

Le suivi par chromatographie sur couche mince ne montre aucune consommation du produit de départ. Au bout de 48 heures, la réaction est arrêtée et le composé cible **[28Zn^{II}]** n'est pas obtenu. Ce résultat peut s'expliquer par la longueur trop courte des chaînes alkyles de l'anse.

^a La métallation a été effectuée sur une petite quantité de porphyrine **12** comme réaction test, selon les conditions opératoires décrites pour le composé **[49Zn^{II}]**. Le composé **[12Zn^{II}]** obtenu n'a pas été caractérisé, mais le suivi par UV-Visible a confirmé la fin de la réaction.

Par ailleurs, la coordination de l'atome d'azote de la pyridine sur le zinc provoque un déplacement du métal en-dehors du plan de la porphyrine. Ce mouvement éloigne alors les chaînes carbonées de leurs points d'ancrage, ne permettant a priori pas à la réaction de se faire.

II.2.3.b) Espaceur à quatre atomes de carbone

Pour contourner les contraintes géométriques rencontrées lors de l'utilisation de **27**, une nouvelle anse pyridinique a été synthétisée. Elle est basée sur le même motif que précédemment, mais avec des bras alkyles de type C₄. Dans un premier temps, la stratégie logique de synthèse a été d'utiliser un réactif pour le double couplage de Heck permettant l'introduction d'un carbone supplémentaire, l'objectif étant toujours de parvenir à une synthèse courte et efficace de l'anse. Les premiers essais ont été réalisés entre la 3,5-dibromopyridine et le 3-buténol, produit disponible au laboratoire (**Figure 47**). Le composé désiré **30** n'a jamais été isolé.

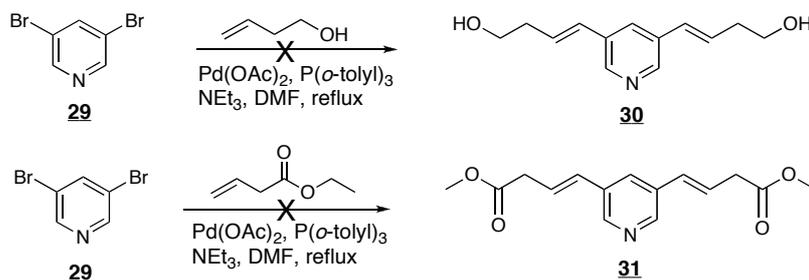


Figure 47 : échec des synthèses de **30** et **31**.

La réaction a ensuite été réalisée avec du buténoate de méthyle, possédant une fonction ester comme l'acrylate d'éthyle. À nouveau, le composé voulu **31** n'a pas été obtenu.

En s'inspirant des travaux de Chambron et Sauvage¹⁰⁰ sur les 2,2'-bipyridine, une nouvelle synthèse pour l'anse pyridinique a été développée. Celle-ci repose sur la substitution d'une pyridine en position 3 et 5 par des chaînes alkyles, à partir de la 3,5-diméthyle pyridine **32** (**Figure 48**).

¹⁰⁰ Chambron, J.-C.; Sauvage, J.-P. *Tetrahedron* **1987**, *43*, 895.

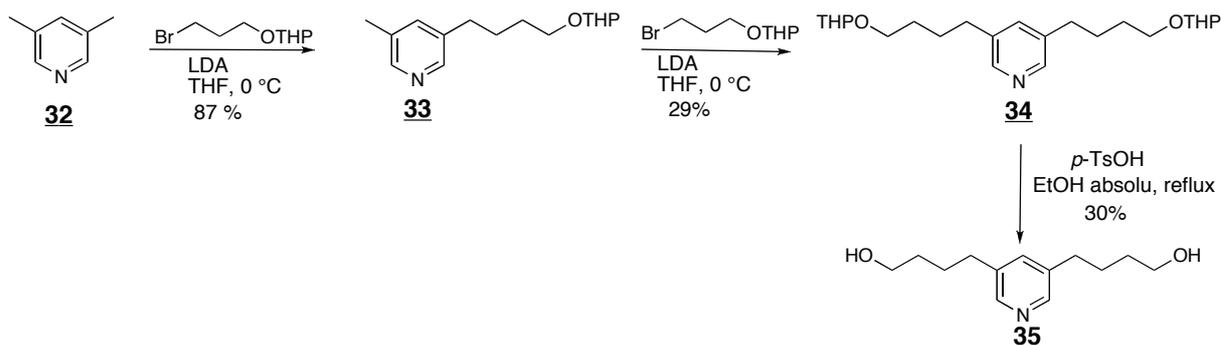


Figure 48 : synthèse de **35**.

La première étape de cette synthèse fait intervenir du LDA (lithium diisopropylamide) préparé *in situ*, qui par réaction sur **32** permet de former l'anion sur l'un des méthyles. Cet anion va ensuite réagir par substitution nucléophile d'ordre 2 sur du bromopropanol préalablement protégé, pour parvenir à **33** avec 87 % de rendement. Cette étape est répétée pour fournir **34** avec un rendement de 29 %. La déprotection des hydroxyles en milieu acide¹⁰¹ donne **35** avec un rendement de 30 %. Le rendement global de cette synthèse en trois étapes est de 8 %, ce qui n'a pas été jugé satisfaisant pour la préparation de ce produit. De plus les différents intermédiaires étant très polaires, les purifications par chromatographie sur colonne s'avèrent délicates.

Finalement, la dernière approche synthétique s'est orientée vers l'utilisation du couplage de Sonogashira.¹⁰² À partir de la 3,5-dibromopyridine **29**, il est possible d'obtenir **37** en seulement deux étapes et avec un rendement de 57 % (Figure 49).

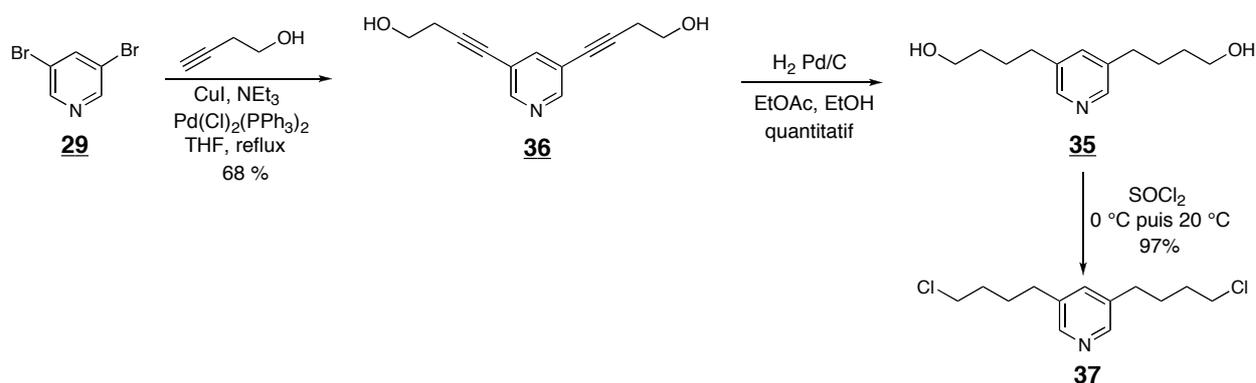


Figure 49 : synthèse de l'anse pyridinique **37**.

¹⁰¹ Miyashita, N.; Yoshikoshi, A.; Grieco, P. A. *J. Org. Chem.* **1977**, *42*, 3772.

¹⁰² Sonogashira, K.; Tohda, Y.; Hagihara, N. *Tetrahedron Lett.* **1975**, *16*, 4467.

Dans un premier temps, le double couplage de Sonogashira¹⁰³ entre **29** et le 4-hydroxybutyne en milieu basique et en présence de quantité catalytique de Pd^{II} et Cu^I, fournit **36** avec 68 % de rendement. Les triples liaisons carbone-carbone des fonctions alcyne, sont ensuite hydrogénées à l'aide de palladium sur charbon pour fournir directement **35**. La dernière étape permet de changer les groupement hydroxyles en groupements partant à l'aide d'un réactif de chloration en vue de la condensation avec la **Porphen** fonctionnalisée **12**. On obtient ainsi **37** avec un rendement de 97 %.

La réaction entre **12** et **37** n'a pas encore été réalisée. En effet, des problèmes de reproductibilité de la synthèse de **12** ont été rencontrés et plus particulièrement lors des quatre réarrangements de Claisen. Comme énoncé précédemment, cette étape nécessite des conditions rudes, et les rendements obtenus sont aléatoires. Pour tout de même mettre à profit l'utilisation de cette nouvelle anse pyridinique, des modifications sur le squelette de la **Porphen** ont été envisagées.

II.2.4. Autres approches

II.2.4.a) Synthèse à partir d'un dipyrrolylméthane substitué

Suite aux difficultés de mise au point des réarrangements de Claisen, le nouveau modèle cible **38** (**Figure 50**) ne présente plus les groupements allyles. La molécule visée a été simplifiée et la formation de l'intermédiaire **9** relève d'une chimie plus « classique » des porphyrines.

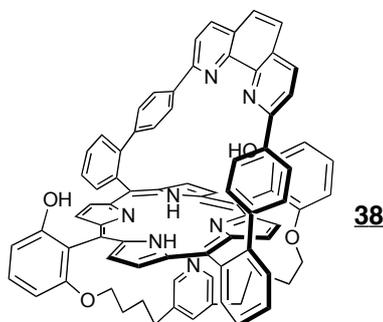


Figure 50 : nouveau modèle cible **38**.

¹⁰³ Singh, S.; Das, G.; Singh, O. V.; Han H. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 1983.

La synthèse de **9** repose sur la condensation acido-catalysée en milieu dilué entre le dialdéhyde **4** et le dipyrrométhane substitué **39** selon le schéma réactionnel de la **Figure 51**. Ce dipyrrométhane est obtenu selon des méthodes décrites dans la littérature par Lindsey *et al.*¹⁰⁴ Cette approche présente un rendement de cyclisation de la porphyrine faible (38 %) par rapport à la **Porphen**, mais permet d'obtenir le composé **9** en une seule étape. L'étape suivante consiste à déprotéger les groupements hydroxyles par coupure des fonctions éthers de méthyles à l'aide de BBr_3 .

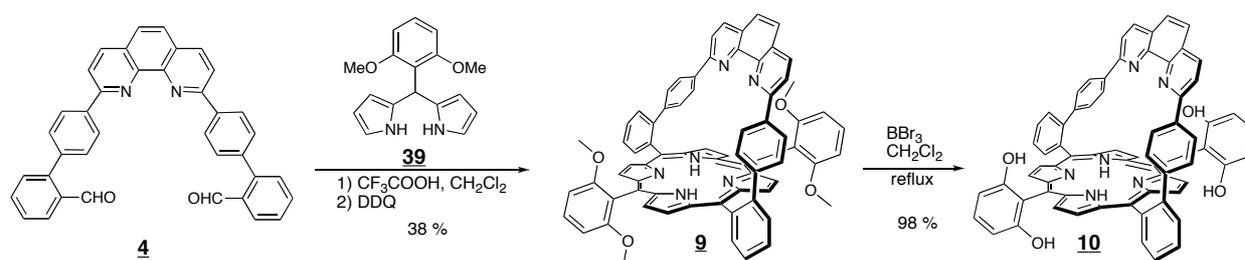


Figure 51: autre voie de synthèse de l'intermédiaire **10**.

L'intermédiaire **10** obtenu est ensuite métallé au zinc pour fournir la métalloporphyrine **[10Zn^{II}]^b**. Le zinc est à nouveau utilisé pour son effet de matrice, permettant d'orienter l'approche de la pyridine sur la face proximale de **[10Zn^{II}]**. La réaction entre **[10Zn^{II}]** et **37** (**Figure 52**) est réalisée dans les conditions usuelles décrites auparavant. Le suivi par chromatographie sur couche mince montre la disparition du produit de départ, mais des problèmes de solubilité du composé d'arrivée n'ont pas permis sa caractérisation.

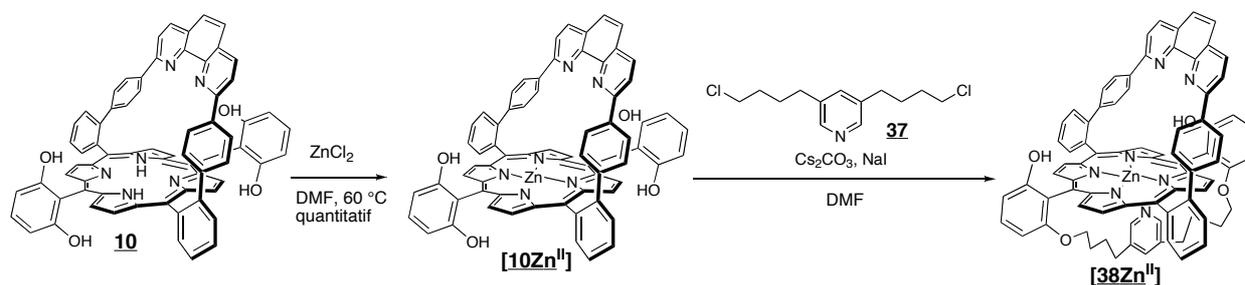


Figure 52 : schéma réactionnel pour la synthèse de **[38Zn^{II}]**.

¹⁰⁴ Lee, C-H.; Lindsey, J. S. *Tetrahedron* **1994**, *50*, 11427.

^b La métallation a été effectuée sur une petite quantité de porphyrine **10** comme réaction test, selon les conditions opératoires décrites pour le composé **[49Zn^{II}]**. Le composé **[10Zn^{II}]** obtenu n'a pas été caractérisé, mais le suivi par UV-Visible a confirmé la fin de la réaction.

Il semble donc, que les groupements allyles du premier modèle cible envisagé jouent un rôle important pour la solubilisation du produit final. Suite à tous ces résultats, un autre composé a été envisagé, dont la synthèse contourne à la fois le problème des réarrangement de Claisen, tout en permettant de garder une bonne solubilité.

II.2.4.b) Greffage des phénols sur l'anse phénanthroline

Le nouveau composé cible envisagé contient les points d'ancrage de l'anse pyridinique directement sur l'anse phénanthroline. Les deux autres positions *meso* de la porphyrine **44** ainsi obtenue restent libres et peuvent être substituées par des groupements augmentant la solubilité du composé. Cette nouvelle approche entraîne donc l'utilisation d'un dialdéhyde de départ différent de **4**. Pour cela, l'acide boronique **42** a été synthétisé en deux étapes à partir de **40** (Figure 53).

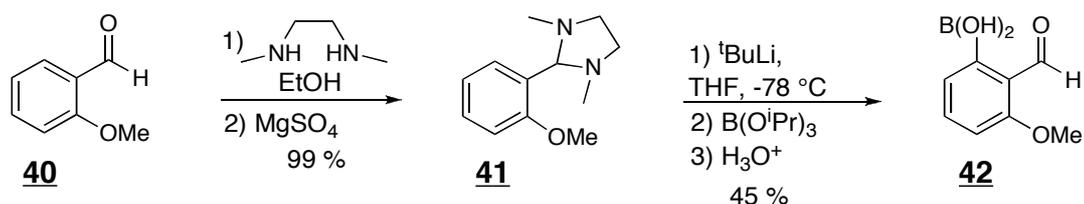


Figure 53: synthèse de l'acide boronique **42**.

La fonction aldéhyde de **40** a tout d'abord été protégée en présence de N,N' -diméthyléthylènediamine¹⁰⁵ pour donner l'aminal **41**. Ce type de groupement protecteur a été préféré à un acétal, car il oriente sélectivement l'*ortho* lithiation de l'étape suivante. L'acide boronique **42** est obtenu par piégeage du lithien de **41** à l'aide de triisopropyle borate avec un rendement de 45 %. Il est ensuite couplé sur la 2,9-bis(*p*-bromophényl)phénanthroline **3** en présence d'une quantité catalytique de Pd^0 en milieu biphasique et basique pour fournir le dialdéhyde correspondant **43**. La condensation entre **43** et le dipyrrole méthane **5** en milieu dilué et acido-catalysé donne la porphyrine **44** avec un rendement de 20 % (Figure 54).

¹⁰⁵ Couture, A.; Deniau, E.; Grandclaudeon, P.; Hoarau, C. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 3128.

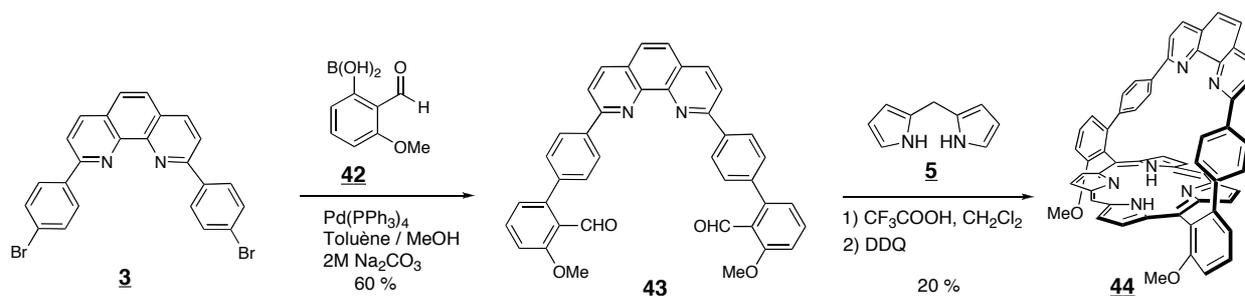


Figure 54: synthèse de la porphyrine **44**.

La bromation des positions meso permettrait l'introduction par couplage de Suzuki de groupements solubilisants et la déprotection des fonctions éthers de méthyles fournirait la porphyrine avec deux groupements hydroxyles libres. Ces groupements -OH peuvent réagir avec l'anse **37** pour former un nouveau modèle de cytochrome P450. Par faute de temps, la suite de la synthèse n'a pas encore été réalisée. En outre, certaines étapes dans l'obtention de **44** nécessitent encore quelques mises au point, afin d'augmenter le rendement de condensation entre **43** et le dipyrrolylméthane **5**.

II.2.5. Récapitulatif

Les différentes étapes pour l'élaboration de modèles de cytochrome P450 décrits dans ce travail nous ont permis d'affiner les stratégies synthétiques pour y parvenir. Le premier composé cible **22** a été obtenu au laboratoire, mais des difficultés de déprotection du groupement thiol n'ont pas permis d'éliminer le groupement acétamide pour ainsi parvenir au thiol déprotégé, mime de la cystéine.

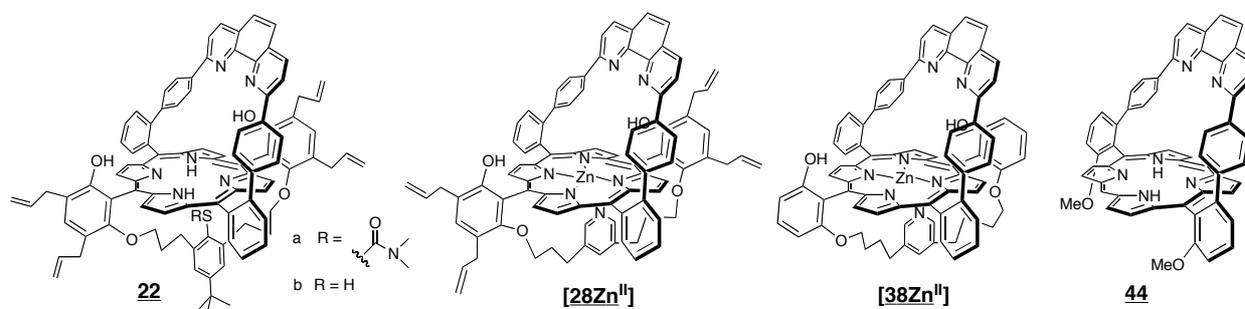


Figure 55: récapitulatif des modèles de cytochrome P450 envisagés.

En parallèle, une autre anse a été conçue. Celle-ci possède une pyridine comme base axiale, mais sa condensation avec la Porphén fonctionnalisée [**12Zn^{II}**] n'a pas été fructueuse. Le composé [**28Zn^{II}**] n'a pas pu être isolé pour des raisons de contraintes de taille de l'anse. Pour contourner ces problèmes géométriques, une nouvelle anse avec des bras alkyles de type « butyle » a été synthétisée. Cependant, la réaction de condensation entre cette nouvelle anse et la Porphén **12** n'a pas été réalisée. En effet, l'étape limitante de la synthèse de **12** concerne les quatre réarrangements de Claisen, qui fournissent des rendements aléatoires et nécessitent des conditions de réactions rudes. Le nouveau modèle visé [**38Zn^{II}**] ne possède ainsi plus les quatre fonctions allyles, mais des problèmes de solubilité n'ont pas permis sa caractérisation. Les groupements allyles jouent donc un rôle important pour la solubilisation du produit final, démontrant la nécessité de groupements solubilisants sur nos modèles. Pour cela, le composé **44** est un bon intermédiaire dans la conception d'un nouvel analogue d'hémoprotéine. Il devrait permettre le greffage d'une anse directement sur l'anse phénanthroline, réglant ainsi d'éventuelles contraintes de taille, tout en permettant la substitution des positions *meso* en vue du contrôle de la solubilité des modèles.

II.3. Modèles d'hémoprotéines à bras pyridinique

Les nouveaux modèles décrits dans cette partie ont été conçus dans le but de mimer la myoglobine et la cytochrome *c* oxydase. Leur synthèse est analogue et est basée sur la fonctionnalisation de la **Porphén** par un ou deux bras pyridiniques. De plus, elle met à profit des intermédiaires isolés lors des synthèses précédentes.

II.3.1. Modèle de myoglobine

La molécule cible envisagée repose, dans un premier temps, sur l'introduction d'un bras pyridinique comme base axiale sur une des positions *meso* de la **Porphén 6**. Dans un second temps, la méthylation d'un des atomes d'azote de l'anse phénanthroline permettrait de créer de la gêne stérique dans la cavité, générant un composé capable de défavoriser la géométrie linéaire de la liaison Fe-CO.

II.3.1.a) Synthèse

Le bras pyridinique **46** a été obtenu en deux étapes (**Figure 56**) à partir de l'intermédiaire **34** avec un rendement de 57 %, isolé lors d'une précédente synthèse. La première étape consiste à déprotéger le groupement hydroxyle de **33** en milieu acide pour donner **45** avec un rendement de 59 %. La seconde étape permet de changer l'hydroxyle en bon groupement partant de type mésylate en vue de la réaction avec la porphyrine correspondante. On obtient ainsi **46** avec un rendement de 97 %.

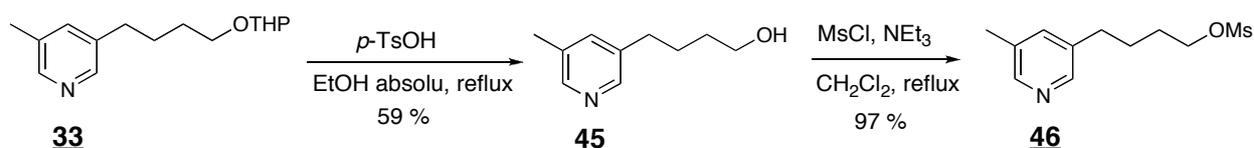


Figure 56: synthèse du bras pyridinique **46**.

La porphyrine [**50Zn^{II}**] (**Figure 57**) est obtenue en quatre étapes avec un rendement global de 57 % à partir de la monobromo-Porphén **47**. Le composé **47** est un sous-produit de l'étape de dibromation de la Porphén **6**, qui peut aussi être préparé par utilisation d'un défaut de *N*-bromosuccinimide (NBS) sur la Porphén préalablement métallée au zinc avec un rendement de 60 %.

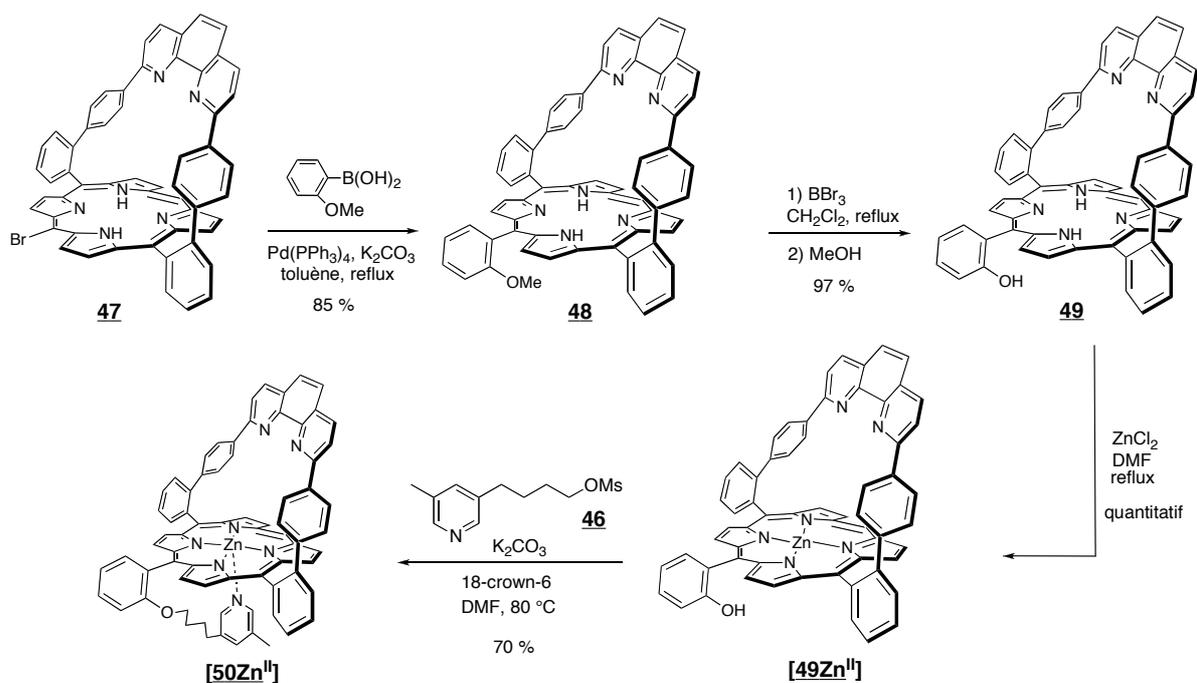


Figure 57: synthèse de [**50Zn^{II}**].

Le couplage de Suzuki entre la monobromo-**Porphén** et un excès d'acide 2-méthoxyphényle boronique¹⁰⁶ en présence catalytique de Pd⁰ dans le toluène anhydre et de K₂CO₃ fournit un mélange. La purification de ce mélange par chromatographie sur colonne de silice fournit une première fraction constituée d'un composé, dont la chromatographie sur couche mince après évaporation du solvant montre la présence de deux composés (**Figure 58**). Les fractions suivantes recueillies sont toutes des mélanges des deux ou trois produits visibles sur la chromatographie sur couche mince du brut de réaction. L'analyse en RMN ¹H de ces différentes solutions révèle l'existence de plusieurs porphyrines, alors qu'une seule masse moléculaire correspondant au produit souhaité est observée par spectrométrie de masse.

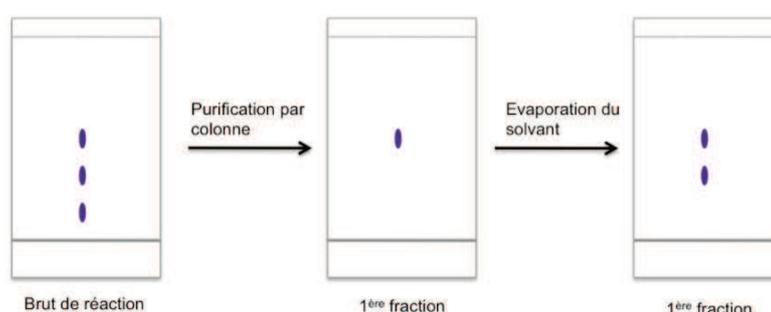


Figure 58 : chromatographie sur couche mince du mélange de **48** et de la première fraction après purification sur colonne.

On obtient donc un mélange d'atropoisomères¹⁰⁷ de **48**, par rotation autour de la liaison *meso*-aryl de la porphyrine. L'un de ces atropoisomères a tout de même pu être isolé par chromatographie sur colonne, en conservant les fractions à froid et en évaporant le solvant dans l'évaporateur rotatif à 0 °C. L'attribution de l'ensemble des protons a été rendue possible grâce à la réalisation d'analyses bidimensionnelles COSY et ROESY à 0 °C. Le spectre ROESY de l'atropoisomère isolé ne montre aucune tâche de corrélation pour un couplage spatial entre un proton du groupement méthoxy et un proton de la porphyrine ou de l'anse. Nous avons donc déduit que le composé pur obtenu était l'isomère possédant le groupement –OMe orienté vers la face du dessous. Cependant, la même expérience ROESY réalisée sur le mélange d'atropoisomères ne montre pas non plus de tâche de corrélation entre un proton du groupement méthoxy orienté sur la face du dessus et un proton de la porphyrine ou de l'anse. Nous ne pouvons donc pas tirer de conclusion quant à la nature exacte de l'atropoisomère isolé.

¹⁰⁶ Gerbino, D. C.; Mandolesi, S. D.; Schmalz, H.-G.; Podestà, J. C. *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, 23, 3964.

¹⁰⁷ Dirks, J. W.; Underwood, G.; Matheson, J. C.; Gust, D. *J. Org. Chem.* **1979**, 44, 2551.

L'étape suivante consiste à déprotéger les groupements hydroxyles par coupure des fonctions éthers de méthyles de **48** en présence de BBr₃ dans du dichlorométhane préalablement distillé sur CaH₂. Après filtration sur colonne de silice on obtient **49** avec un rendement de 97 %. Le composé **49** est ensuite métallée au zinc, qui par effet template, oriente l'approche de la pyridine sur la face proximale lors de l'étape suivante. Le greffage du bras pyridinique **46** sur [**49Zn^{II}**] est obtenu par substitution nucléophile d'ordre 2 en milieu basique (carbonate de potassium). Le suivi par chromatographie sur couche mince indique la formation d'un seul composé. L'atropoisomérisation est ainsi bloquée par coordination de la pyridine sur le zinc et on obtient [**50Zn^{II}**] avec un rendement de 70 % (Figure 57).

II.3.1.b) Caractérisation de [**50Zn^{II}**]

Le composé [**50Zn^{II}**] a été caractérisé par RMN du proton. L'interprétation du spectre RMN présenté sur la Figure 59 a été facilitée par l'utilisation de séquences 2D ROESY.

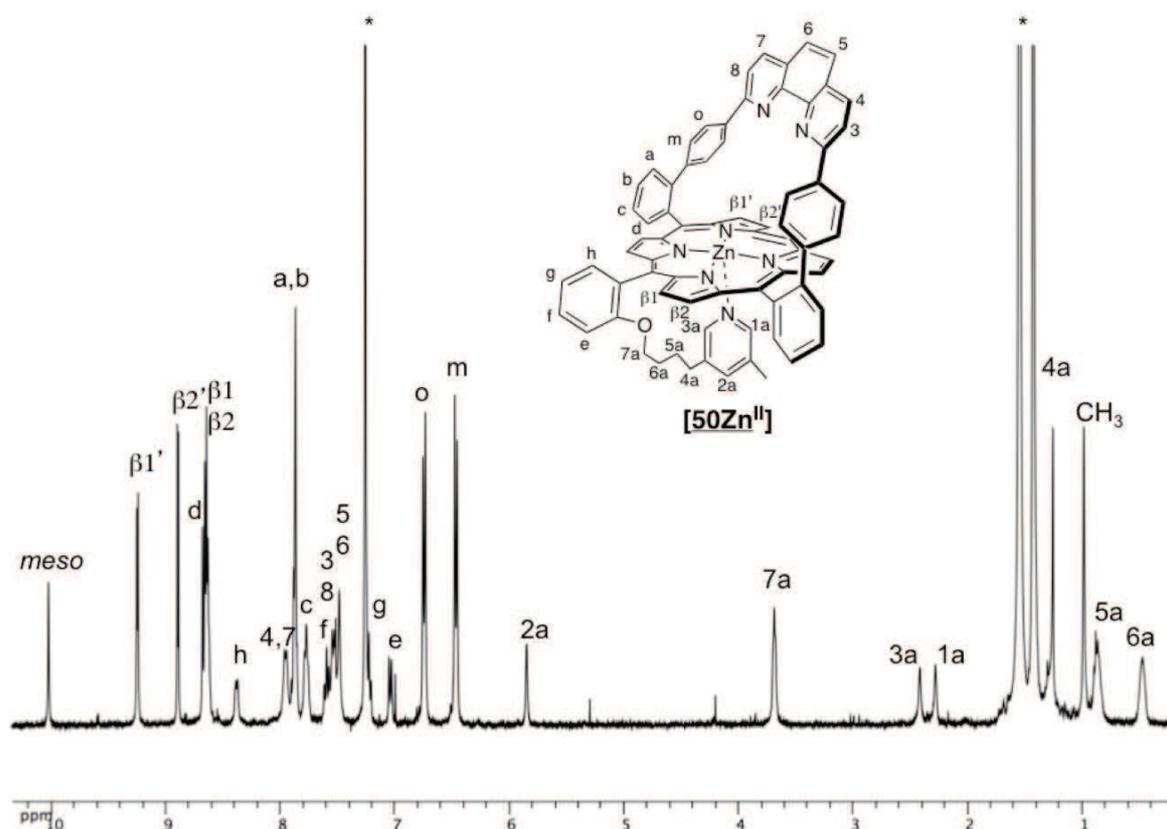


Figure 59: spectre RMN ¹H 400 MHz de [**50Zn^{II}**] dans du CDCl₃ à 25°C (* : solvant).

Dans ce spectre, le proton le plus facile à identifier est le proton meso, qui est le plus déblindé à 10,03 ppm. Il constitue le point de départ de l'attribution de tous les protons de **[50Zn^{II}]**. Les signaux correspondants aux protons β pyrroliques ($H_{\beta 1}$, $H_{\beta 2}$, $H_{\beta 1'}$, $H_{\beta 2'}$), sont observés entre 9,26 ppm et 8,65 ppm, sous la forme de deux doublets intégrant chacun pour deux protons avec une constante de couplage de $J = 4,4$ Hz et d'un singulet intégrant pour quatre protons. Les signaux des protons aromatiques des groupements phényles et de la phénanthroline de l'anse sont répartis dans la fenêtre allant de 8,65 ppm à 6,46 ppm. Dans cette zone, les protons H_o et H_m des espaceurs phényles de l'anse résonnent à 6,74 ppm et 6,48 ppm sous la forme de deux doublets caractéristiques, intégrant chacun pour quatre protons avec une constante de couplage de $J = 8,0$ Hz.

Il faut noter également la répartition inhabituelle des protons pyridiniques entre 5,85 ppm et 2,28 ppm. Les signaux de H_{3a} et H_{1a} sont blindés à 2,41 et 2,28 ppm respectivement. Ces bas déplacements chimiques sont dus au cône de blindage de la porphyrine, montrant que la pyridine est bien coordonnée au zinc. Enfin les protons alkyles se situent entre 0,48 ppm et 3,68 ppm.

II.3.1.c) Perspectives

Pour parvenir à un mime efficace de la myoglobine, notre composé doit dans un premier temps former un adduit stable en présence de O_2 , puis être capable de discriminer le CO en faveur de O_2 . La méthylation d'un des atomes d'azote de l'anse phénanthroline de **[50Zn^{II}]** (**Figure 60**) permet de générer une cavité encombrée. Lorsque le zinc est remplacé par du fer dans **[51Zn^{II}]**, cette gêne stérique perturberait alors la liaison Fe-CO. Cette étape de méthylation a été réalisée au laboratoire, en utilisant un équivalent de diméthylsulfate dans le THF et est en cours d'optimisation. Elle semble cependant conduire à un résultat satisfaisant, car des analyses préliminaires par spectrométrie de masse ont permis d'identifier le composé voulu **[51Zn^{II}]**.

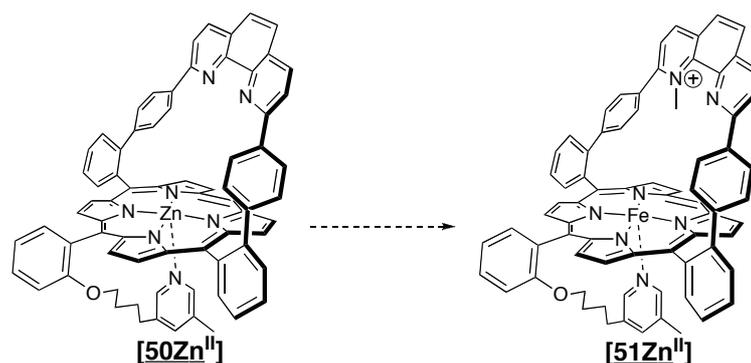


Figure 60 : vers le composé **[51Zn^{II}]**.

Dans le composé **[50Zn^{II}]** il sera nécessaire de procéder au remplacement du zinc (II) central par du fer en Fe^{III} puis de le réduire en Fe^{II} pour étudier sa réactivité en présence de O₂ et de CO.

II.3.2. Modèle du site actif de la cytochrome *c* oxydase

Le nouveau modèle de cytochrome *c* oxydase envisagé doit pouvoir contourner la géométrie hexacoordinée des complexes de fer (II) synthétisés par le Dr M. Lo et être plus souple pour éviter les soucis de tension au sein de la molécule en présence de bases exogènes. Pour cela, il faut introduire un ligand auxiliaire du cuivre plus encombré, et découpler les deux bras pyridiniques sur les deux positions *meso* de la porphyrine.

II.3.2.a) Synthèse de l'intermédiaire **[53Zn^{II}]**

La porphyrine **[53Zn^{II}]** (Figure 61) est obtenue par la même voie de synthèse que **[49Zn^{II}]** en trois étapes avec un rendement global de 82 %. Le composé de départ est la dibromo-**Porphen 8**, ce qui permet, par double couplage de Suzuki, de parvenir au composé **52** substitué sur les deux positions *meso*. On obtient un mélange d'atropoisomères de **52** par rotation autour des liaisons *meso*-aryl de la porphyrine. L'un de ces atropoisomères a pu être isolé par chromatographie sur colonne et l'attribution de l'ensemble des protons a été rendue possible grâce à la réalisation d'analyses bidimensionnelles COSY et ROESY. Cependant, comme dans le cas de **48**, la caractérisation de l'isomère n'a pas pu être établie, du fait de l'absence de corrélation entre les protons des groupements méthoxy et ceux de la porphyrine ou de l'anse.

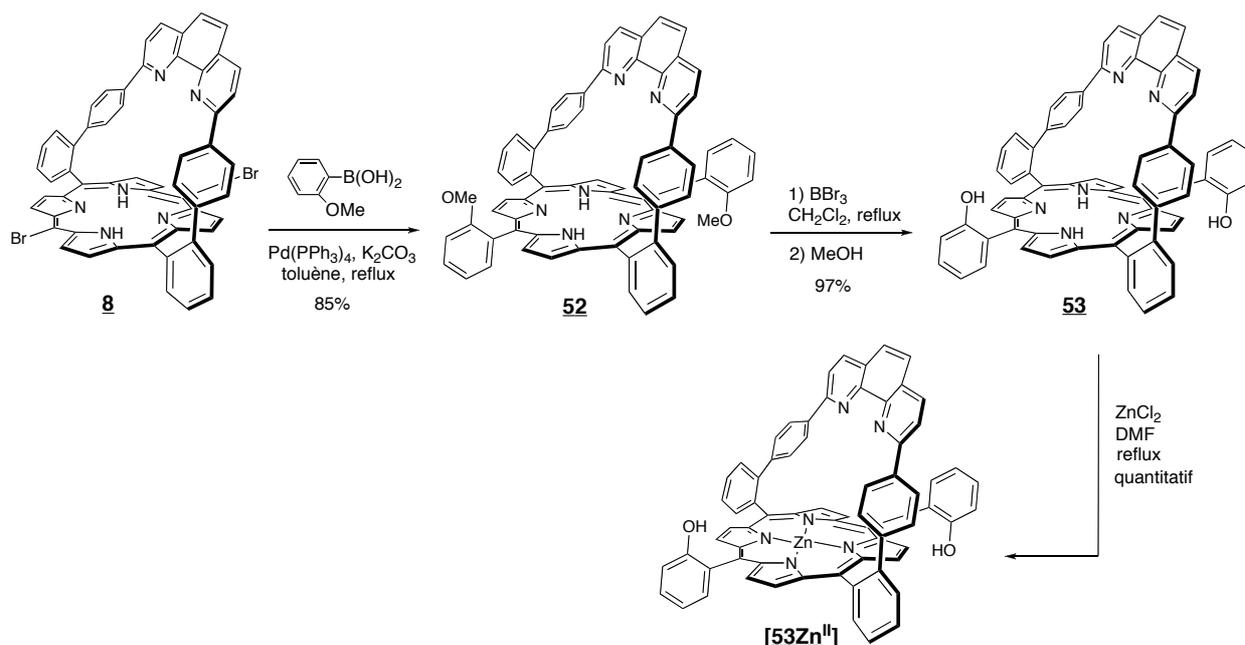


Figure 61 : synthèse de la métalloporphyrine $[53Zn^{II}]$.

Après déprotection des groupements hydroxyles de **52** par coupure des fonctions éthers de méthyles, on obtient l'intermédiaire **53** qui est ensuite métallée au zinc pour former $[53Zn^{II}]$.

II.3.2.b) Greffage des bras pyridiniques

L'alkylation de $[53Zn^{II}]$ avec deux équivalents du bras pyridinique **46** est réalisée sous atmosphère inerte, en présence de K_2CO_3 et de 18-crown-6 en quantité catalytique dans le DMF à 80 °C (Figure 62). Après traitement et purification, un mélange d'atropoisomères de $[54Zn^{II}]$ est obtenu. L'un de ces atropoisomère a pu être séparé par chromatographie sur colonne de silice et caractérisé par des études RMN. Celles-ci seront décrites dans le chapitre suivant.

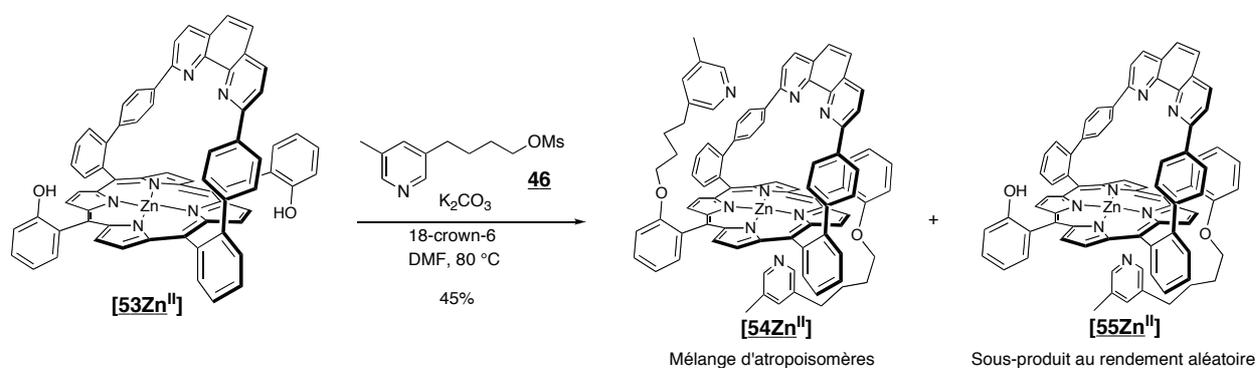


Figure 62 : synthèse de $[54Zn^{II}]$.

Il faut noter qu'au cours de cette synthèse, la présence de produit [**55Zn^{II}**] résultant d'une alkylation partielle des fonctions hydroxyles a été mise en évidence par spectrométrie de masse et chromatographie sur silice. Cependant, [**55Zn^{II}**] est obtenu sous forme d'un mélange d'atropoisomères, comme pour [**54Zn^{II}**] et la difficulté d'obtenir des spectres RMN ¹H exploitables nous ont empêché de caractériser totalement la structure de ces produits.

Du fait de l'importance des produits monoalkylés, notamment dans la différenciation du ligand pendant distal et du coordinant proximal, des efforts ont été faits pour produire spécifiquement le produit monoalkylé, mais les essais d'alkylation en sous-stoechiométrie de bras pyridinique n'ont pas permis d'obtenir [**55Zn^{II}**] de manière sélective.

III. Conclusion

Dans un premier temps, l'élaboration d'un nouveau modèle de cytochrome P450 a connu beaucoup d'évolution par rapport à la molécule initialement visée. La stratégie synthétique pour y parvenir s'est modifiée au fur et à mesure des résultats obtenus lors des différentes étapes de synthèse. En effet, les échecs constatés mettent en évidence la présence nécessaire de groupements solubilisants sur notre modèle, ainsi qu'une structure évitant une tension au sein de l'anse proximale. Ces contraintes peuvent être levées par le greffage d'une anse directement sur l'anse phénanthroline, permettant la substitution des positions *meso*. Dans ce sens, l'intermédiaire **44** semble être un bon candidat pour la conception d'un analogue de cytochrome P450.

Par ailleurs, un modèle de myoglobine basé sur la fonctionnalisation d'une des positions *meso* de la **Porphen** pour l'introduction d'un bras pyridinique comme base axiale a été envisagé. Cette synthèse multi-étapes est très efficace et permet d'obtenir le complexe de zinc [**50Zn^{II}**] avec un rendement global de 57 %. La méthylation d'un des atomes d'azote de l'anse phénanthroline doit permettre l'introduction de gêne stérique dans la cavité. Cette réaction doit encore être optimisée, pour permettre après démétallation du zinc et métallation au fer, d'étudier la réactivité du nouveau complexe formé en présence de O₂.

En parallèle, un autre composé a été conçu pour modéliser le site actif de la cytochrome *c* oxydase, faisant suite plus particulièrement aux travaux du Dr Lo, qui a préparé et étudié une précédente génération de modèles de cet enzyme. L'approche synthétique de ce nouveau composé est analogue à celle de l'analogue de la myoglobine. L'intermédiaire [**54Zn^{II}**] est

obtenu en quatre étapes sous forme d'un mélange d'atropoisomères. La caractérisation d'un des atropoisomères, la métallation en présence de fer (III) et de cuivre (I) ainsi que des études en présence de bases exogènes de type imidazole font l'objet du chapitre suivant.

CHAPITRE III :

Mise en évidence d'un système dynamique et études en présence de bases exogènes

I.	Étude des complexes de zinc du modèle de cytochrome <i>c</i> oxydase.....	72
I.1.	Caractérisation par RMN ¹ H d'un atropoisomère de [<u>54</u> Zn ^{II}].....	72
I.1.1.	<i>Expériences à 0 °C.....</i>	<i>73</i>
I.1.2.	<i>Expériences à -60 °C</i>	<i>77</i>
I.2.	Expériences de RMN ¹ H à température variable.....	83
I.3.	Complexation avec du cuivre (I).....	85
II.	Étude du complexe de fer du modèle de cytochrome <i>c</i> oxydase.....	89
II.1.	Complexation avec le fer (III).....	89
II.2.	Caractérisation par résonance paramagnétique électronique.....	90
II.3.	Étude de la coordination distale par des ligands exogènes.....	93
II.3.1.	<i>Cas de l'imidazole</i>	<i>94</i>
II.3.2.	<i>Cas du 2-méthylimidazole</i>	<i>95</i>
II.3.3.	<i>Cas du N-méthylimidazole.....</i>	<i>97</i>
II.3.4.	<i>Cas de la pyridine.....</i>	<i>99</i>
II.3.5.	<i>Récapitulatif.....</i>	<i>99</i>
III.	Conclusion.....	101

Chapitre III : mise en évidence d'un système dynamique et études en présence de bases exogènes

Dans le chapitre précédent, la synthèse d'un nouveau modèle de cytochrome *c* oxydase basée sur l'utilisation d'une porphyrine à anse phénanthroline a été décrite. La liaison éther de ce nouvel analogue n'empêche pas la rotation autour de la liaison *meso*-aryl de la porphyrine, qui présente des propriétés dynamiques. Ces phénomènes ont été dans un premier temps étudiés par RMN ^1H sur les complexes de zinc de [54Zn^{II}]. Dans un second temps, le zinc a été remplacé par du fer qui possède un sixième site de coordination. Les possibilités de coordination distale par des ligands exogènes sur le composé [54Fe^{III}] ont été examinées et suivies par spectrophotométrie UV-Visible et RPE.

I. Étude des complexes de zinc du modèle de cytochrome *c* oxydase

L'étape d'alkylation sur la position *ortho* des phényles fournit un mélange d'atropoisomères de [54Zn^{II}]. Les deux bras pyridiniques peuvent être orientés sur la face du dessus ou sur la face du dessous de la porphyrine. Trois atropoisomères sont alors obtenus (**Figure 63**), appelés $\alpha\alpha$, $\beta\beta$ et $\alpha\beta$. Par purification à froid, l'un de ces isomères a pu être isolé puis caractérisé.



Figure 63 : structure des trois atropoisomères de [54Zn^{II}].

I.1. Caractérisation par RMN ^1H d'un atropoisomère de [54Zn^{II}]

Le composé [54Zn^{II}] a été caractérisé par plusieurs techniques spectroscopiques : RMN ^1H , spectrométrie de masse, UV-Visible, analyse élémentaire (voir partie expérimentale). Nous nous intéresserons ici à sa caractérisation par RMN ^1H .

I.1.1. Expériences à 0 °C

Les spectres RMN ^1H (500 MHz) ont été enregistrés dans le chloroforme deutéré à 0 °C, pour éviter l'apparition d'un second atropoisomère à température ambiante. Le spectre unidimensionnel d'un atropoisomère de **[54Zn^{II}]** est représenté sur les **Figures 64 et 65**.

Dans ce spectre, les signaux les plus faciles à identifier correspondent aux protons β pyrroliques ($\text{H}_{\beta 1}$ et $\text{H}_{\beta 2}$) qui sont les plus déblindés à 8,70 et 8,64 ppm respectivement. Ils apparaissent sous la forme de deux doublets intégrant chacun pour quatre protons avec une constante de couplage $J = 4,5$ Hz. Ces signaux constituent le point de départ de l'attribution de l'ensemble des protons aromatiques des groupements phényles et de la phénanthroline de l'anse de **[54Zn^{II}]**. Cette attribution sans ambiguïté a été rendue possible grâce à la réalisation d'expériences bidimensionnelles COSY et ROESY à 0 °C. L'expérience COSY est dédiée à la détection des couplages scalaires homonucléaires. Ces couplages ont pour origine les interactions entre les spins nucléaires et apportent des informations précieuses sur les atomes voisins. Leur portée est limitée par le nombre de liaisons chimiques qui séparent les deux atomes. L'expérience ROESY permet quant à elle de détecter les couplages dipolaires directs à travers l'espace entre les spins nucléaires. Sa portée est dépendante de la distance séparant les deux noyaux couplés.

Les déplacements chimiques des protons aromatiques des groupements phényles et de la phénanthroline de l'anse sont répartis dans la fenêtre allant de 8,49 à 6,54 ppm. Dans cette zone, les protons H_o et H_m de l'espaceur phényle de l'anse phénanthroline résonnent à 6,52 et 6,79 ppm sous la forme de deux doublets caractéristiques intégrant chacun pour quatre protons avec une constante de couplage de $J = 8,5$ Hz.

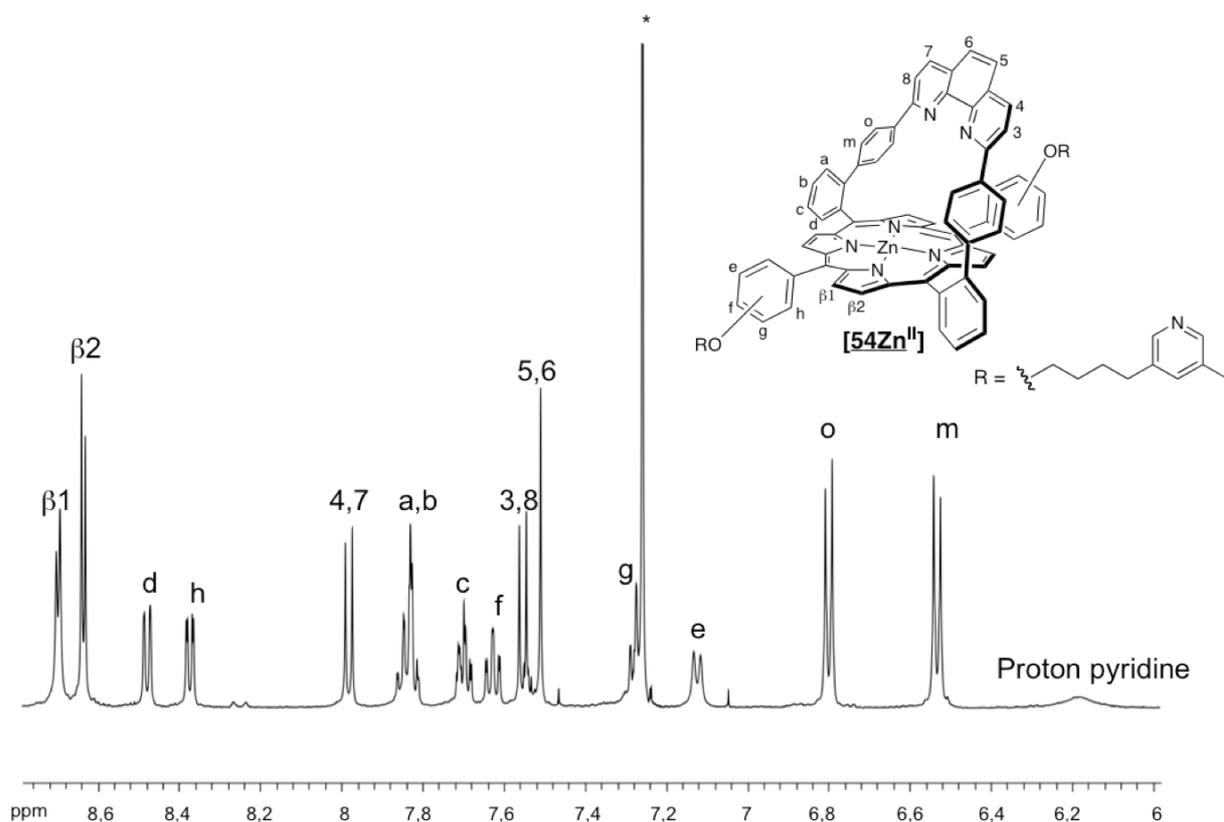


Figure 64 : spectre RMN ^1H d'un atropoisomère de $[\mathbf{54Zn}^{\text{II}}]$ entre 8,8 et 6 ppm (CDCl_3 , 0°C , 500 MHz, * : solvant).

Les signaux des protons H_e , H_f , H_g et H_h intègrent chacun pour deux protons, suggérant que les deux phényles en position *meso* sont équivalents. Or si l'on obtient l'atropoisomère $\alpha\beta$ de $[\mathbf{54Zn}^{\text{II}}]$ un dédoublement de ces signaux devrait être observé, rendant le spectre plus compliqué. En effet, l'environnement chimique de ces protons ne serait plus identique du fait de la coordination des bras pyridiniques de part et d'autre du plan de la porphyrine.

Les signaux entre 6,18 et 0,62 ppm sont larges et correspondent aux protons pyridiniques et aliphatiques. Cependant un nombre insuffisant de signaux est observé pour l'ensemble des protons des deux bras pyridiniques. Les analyses approfondies par COSY et ROESY à 0°C , montrent que certains pics du spectre réunissent les signaux de plusieurs groupes de protons. L'attribution totale n'a pas pu être établie, mais les signaux à 6,18 ppm, 3,69 ppm et à 1,23 ppm correspondent respectivement à des protons de pyridines et à un CH_3 .

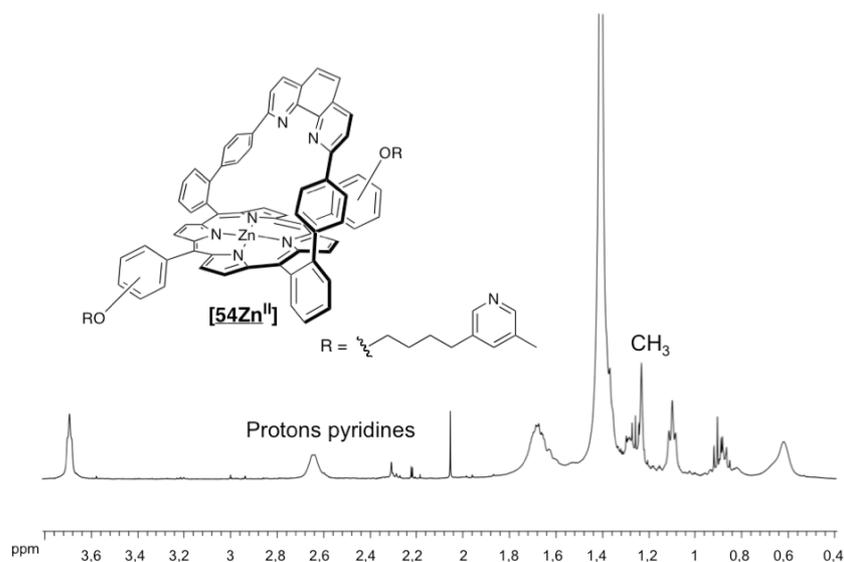


Figure 65 : spectre RMN ^1H d'un atropoisomère de $[54\text{Zn}^{\text{II}}]$ entre 3,8 et 0,4 ppm (CDCl_3 , 0°C , 500 MHz).

Les signaux des deux bras pyridiniques ne sont donc pas différenciés sur le spectre, suggérant que l'atropoisomère isolé n'est pas l' $\alpha\beta$ de $[54\text{Zn}^{\text{II}}]$. Pour le vérifier, les signaux des protons H_o et H_m ont servi de sonde en RMN ROESY à 0°C pour déterminer si l'une des bases s'oriente bien sur la face distale. Sur la Figure 66 est représentée la carte ROESY de l'atropoisomère isolé. L'agrandissement du rectangle bleu de cette carte est représenté sur la Figure 67.

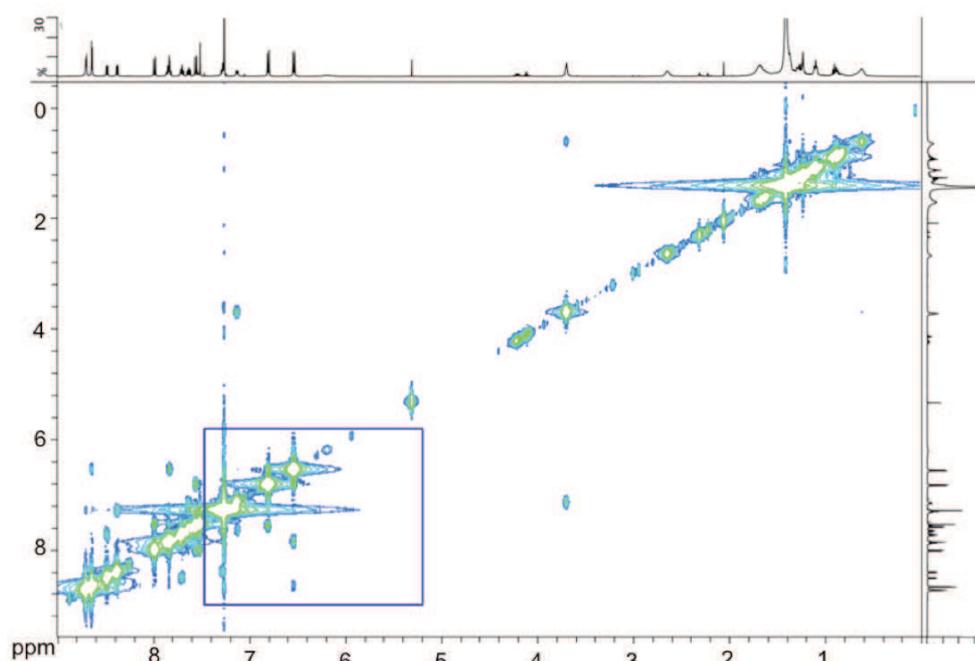


Figure 66 : carte RMN ROESY (^1H - ^1H , 500 MHz) de $[54\text{Zn}^{\text{II}}]$ dans du CDCl_3 à 0°C .

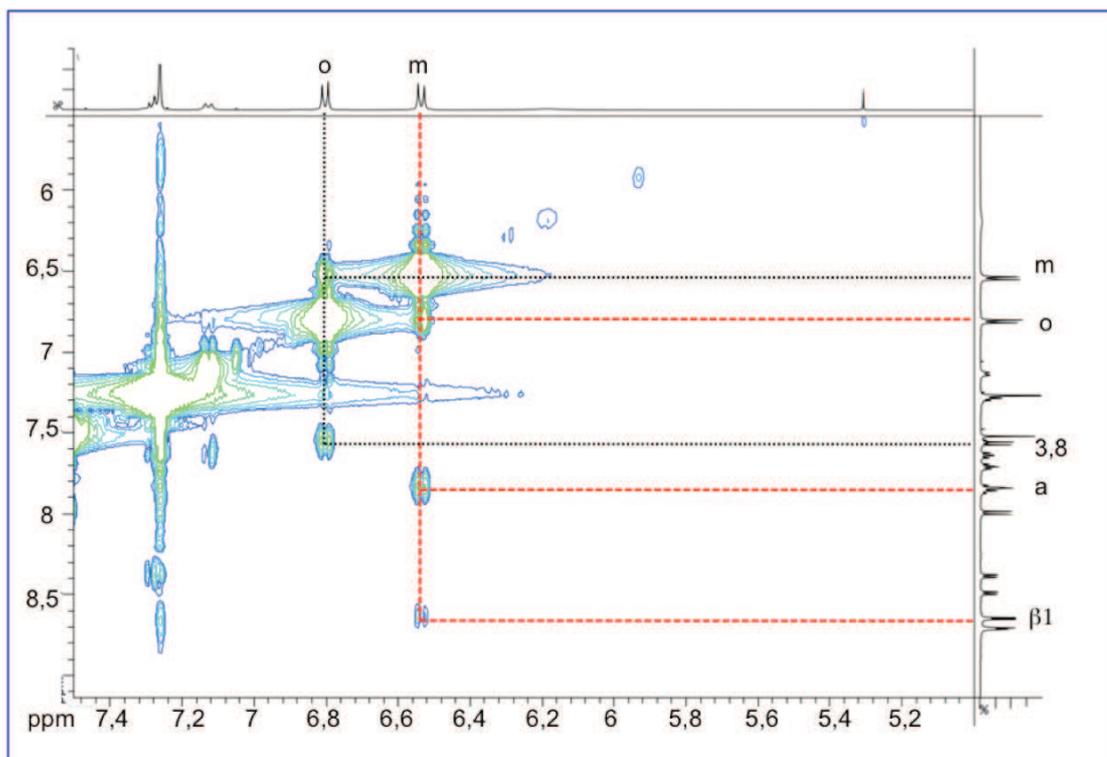


Figure 67 : agrandissement du rectangle bleu de la carte ROESY de $[54Zn^{II}]$.

Des tâches de corrélation entre les protons H_o et H_m et avec $H_{3,8}$ et H_a respectivement sont observées, mais aucun couplage dipolaire entre un proton du bras pyridinique et H_o ou H_m n'est constaté sur le spectre (Figure 67). L'atropoisomère isolé, n'est donc pas l' $\alpha\beta$ de $[54Zn^{II}]$ mais le $\beta\beta$ comportant les deux bras pyridiniques sur la face proximale, comme le montre la Figure 67.

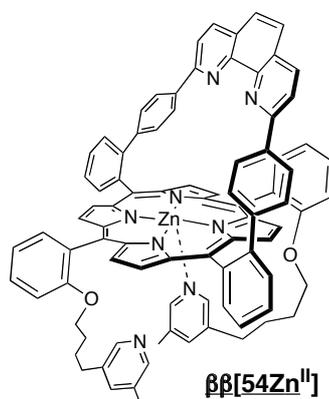


Figure 68 : structure de l'atropoisomère isolé $\beta\beta[54Zn^{II}]$.

I.1.2. Expériences à -60 °C

Suite à l'observation de signaux larges et particuliers pour les protons des bras pyridiniques, l'hypothèse d'un échange des pyridines sur le zinc a été envisagée. Le composé $\beta\beta[54Zn^{II}]$ est donc un système dynamique, dont l'une des conformations a été bloquée en réalisant des expériences de RMN 1H (500 MHz) à -60 °C dans le chloroforme deutéré. Le spectre unidimensionnel obtenu est représenté sur les **Figures 69 et 70**.

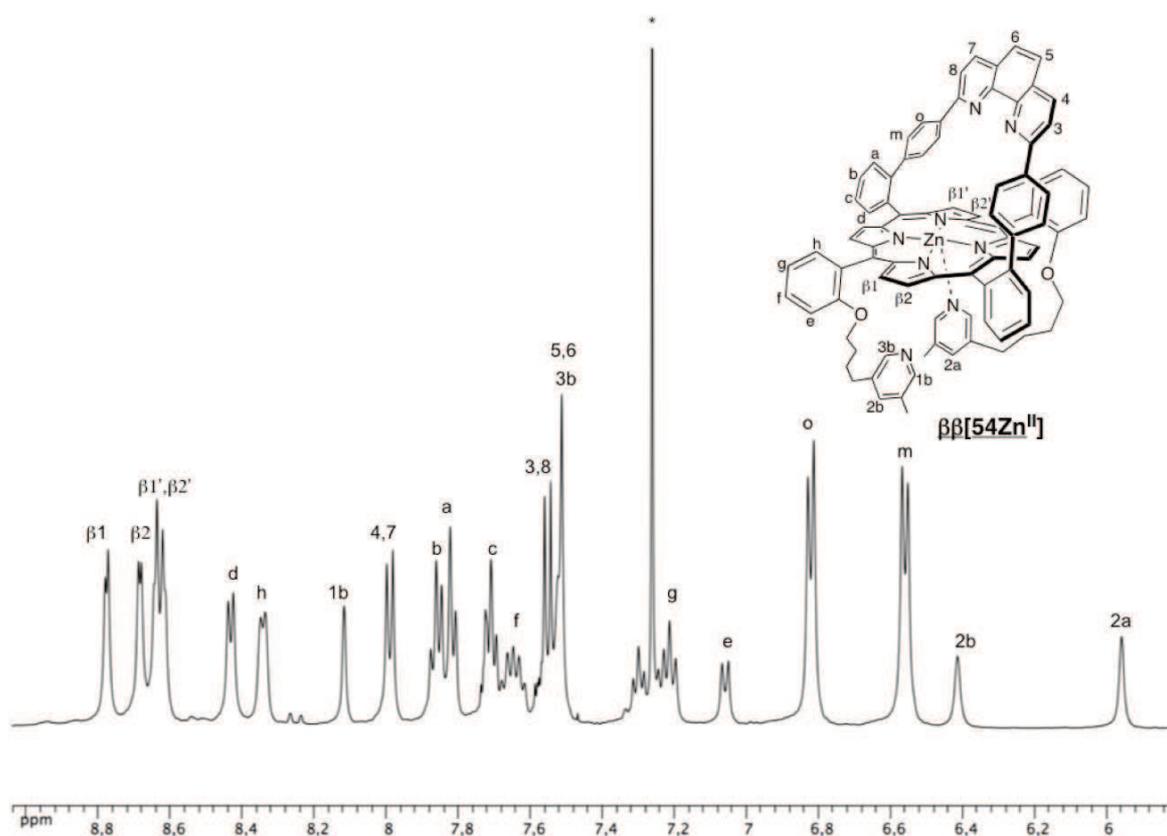


Figure 69 : spectre RMN 1H de $\beta\beta[54Zn^{II}]$ entre 9 et 5,8 ppm ($CDCl_3$, -60 °C, 500 MHz, * : solvant).

Sur le spectre RMN 1H à 0 °C, les protons β pyrroliques apparaissent sous la forme de deux doublets à 8,69 et 8,63 ppm avec une constante de couplage identique égale à 4,5 Hz. À -60 °C, ils apparaissent sous la forme de deux doublets à 8,77 et 8,68 ppm intégrant chacun pour deux protons de constante de couplage égale à 4 Hz et d'un singulet masquant deux doublets à 8,61 ppm intégrant pour quatre protons. Ces changements suggèrent une perte de symétrie du composé $[54Zn^{II}]$ à -60 °C, dû au blocage de l'échange des pyridines sur l'atome de zinc. En effet, à 0 °C il existe un équilibre de dissociation des pyridines qui se coordinent et se décoordinent successivement sur le zinc de $\beta\beta[54Zn^{II}]$, d'où la symétrie observée pour les

protons β pyrroliques. Cette perte de symétrie, entraîne l'affinement du multiplet des protons H_a et H_b en un doublet et un triplet intégrant chacun pour deux protons avec une constante de couplage identique de $J = 7,5$ Hz. De même, les protons H_g ne sont plus totalement équivalents, et apparaissent sous la forme de deux triplets à 7,20 et 7,28 ppm intégrant chacun pour un proton avec une constante de couplage identique de 7,5 Hz.

Le reste des protons aromatiques des groupements phényles et de la phénanthroline de l'anse sont répartis dans la fenêtre allant de 8,44 à 6,52 ppm. Leurs signaux sont analogues à ceux observés sur le spectre RMN 1H à 0 °C. De plus, à 8,12, 6,41 et 5,96 ppm, trois nouveaux signaux intégrant chacun pour un proton sont observés. Il s'agit de protons pyridiniques, dont leur attribution a été possible grâce à des expériences de RMN bidimensionnelles qui seront décrites un peu plus loin.

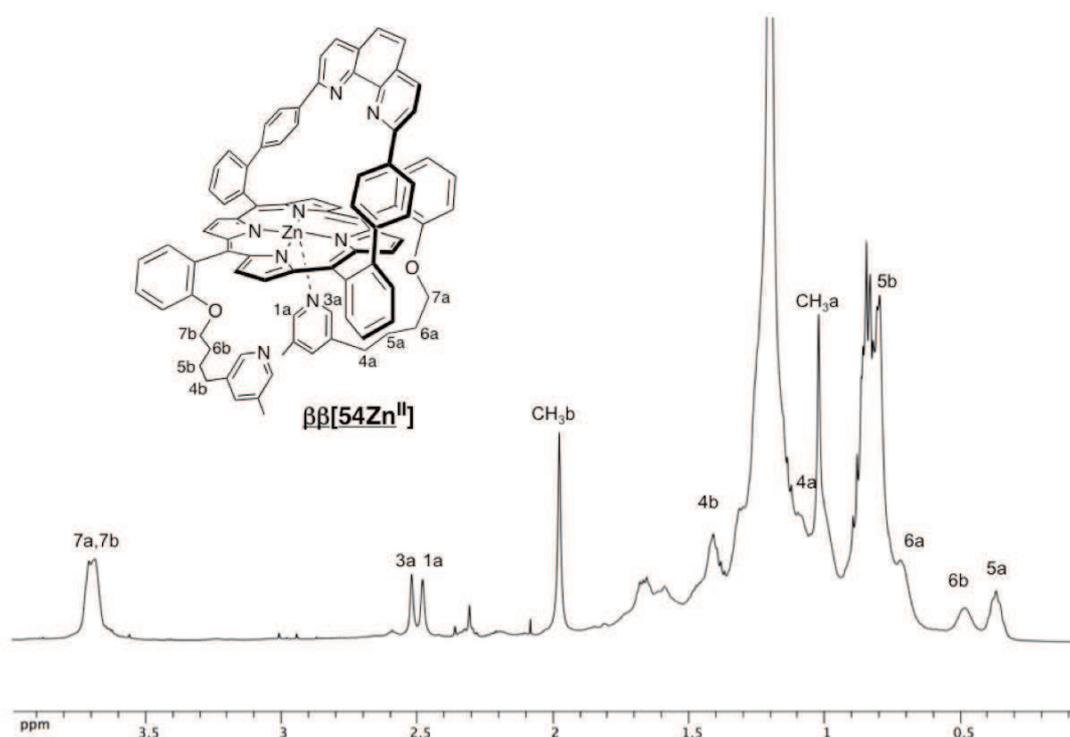


Figure 70 : spectre RMN 1H de $\beta\beta[54Zn^{II}]$ à entre 4 et 0 ppm ($CDCl_3$, -60 °C, 500 MHz).

Sur la partie entre 4 et 0 ppm du spectre RMN 1H à -60 °C, les différents signaux observés correspondent aux protons aliphatiques des chaînes alkyles des bras pyridiniques, ainsi qu'au reste des signaux des pyridines. L'attribution de l'ensemble de ces signaux a été possible grâce à la réalisation d'expériences bidimensionnelles COSY et ROESY à -60 °C. Sur la **Figure 71** est représentée la carte ROESY à -60 °C de $\beta\beta[54Zn^{II}]$. L'agrandissement du rectangle noir de cette carte est représenté sur la **Figure 72**.

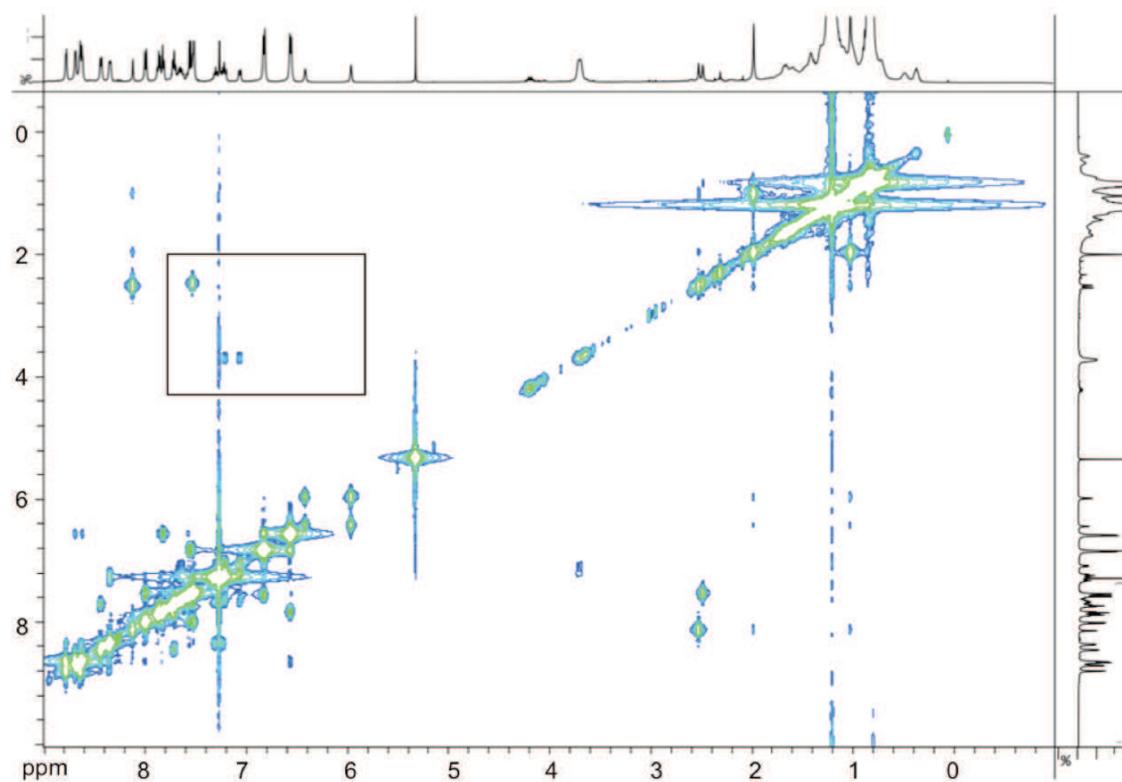


Figure 71: carte RMN ROESY (^1H - ^1H , 500 MHz) de $\beta\beta$ [54Zn^{II}] dans du CDCl₃ à -60 °C.

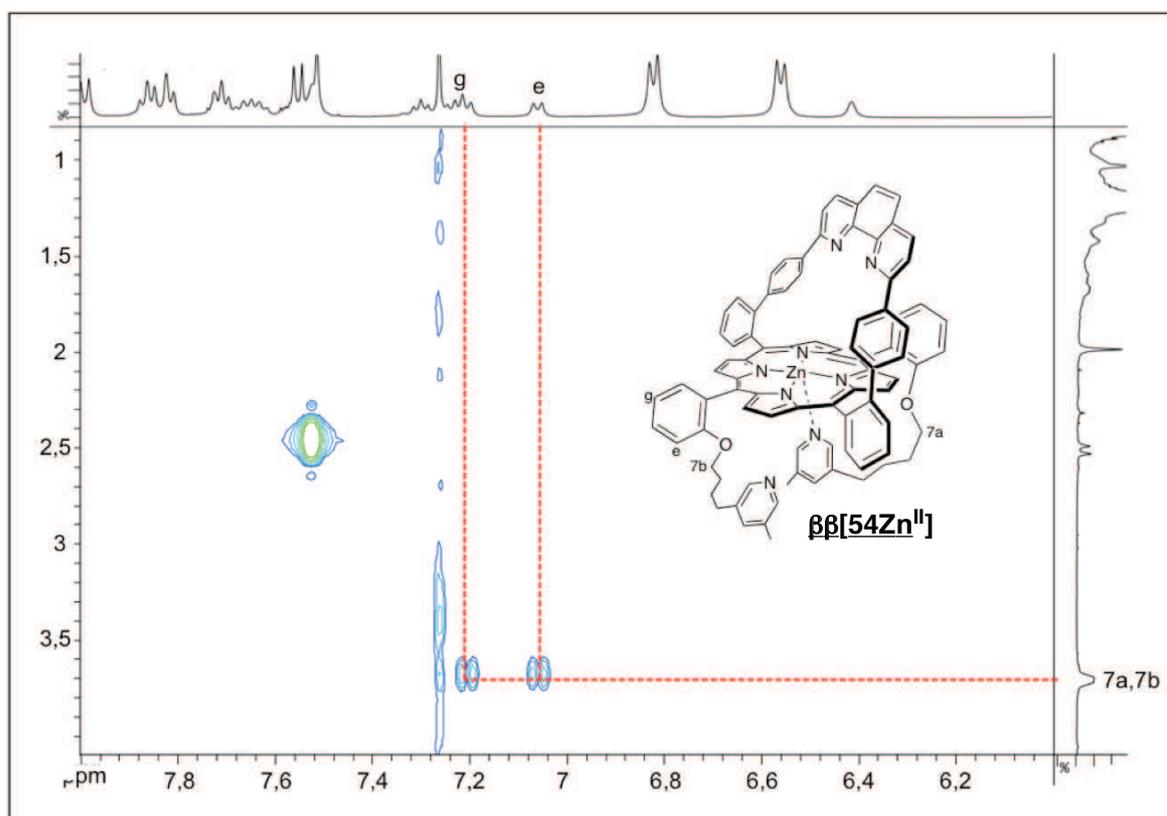


Figure 72: agrandissement du rectangle noir de la carte ROESY à -60 °C de $\beta\beta$ [54Zn^{II}].

Le point de départ de l'attribution des protons des chaînes méthyléniques a été la recherche d'une tâche de corrélation entre un proton aliphatique et un proton du phényle en *meso* de la porphyrine. Sur l'agrandissement du rectangle noir de la carte ROESY à -60 °C, deux couplages dipolaires entre le signal à 3,68 ppm intégrant pour quatre protons et les protons H_e et H_g peuvent être observés. Ce signal correspond donc aux protons les plus proches du phényle et est attribué à H_{7a} et H_{7b}. Les couplages observés à partir de ce signal sur la carte COSY à -60 °C (**Figure 73**) permettent l'identification des protons H_{6a} dans le large signal à 0,72 ppm et H_{6b} à 0,37 ppm.

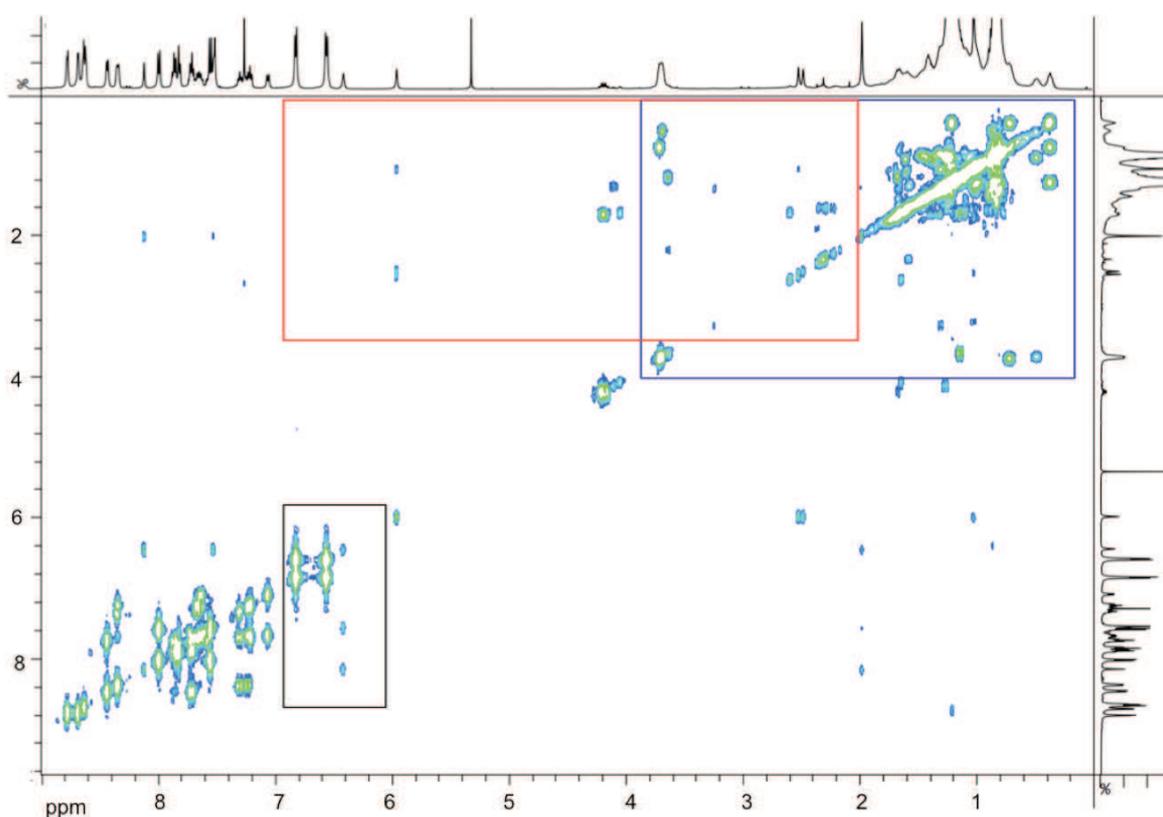


Figure 73 : carte RMN COSY (¹H-¹H, 500 MHz) de $\beta\beta[54Zn^{II}]$ dans du CDCl₃ à -60 °C.

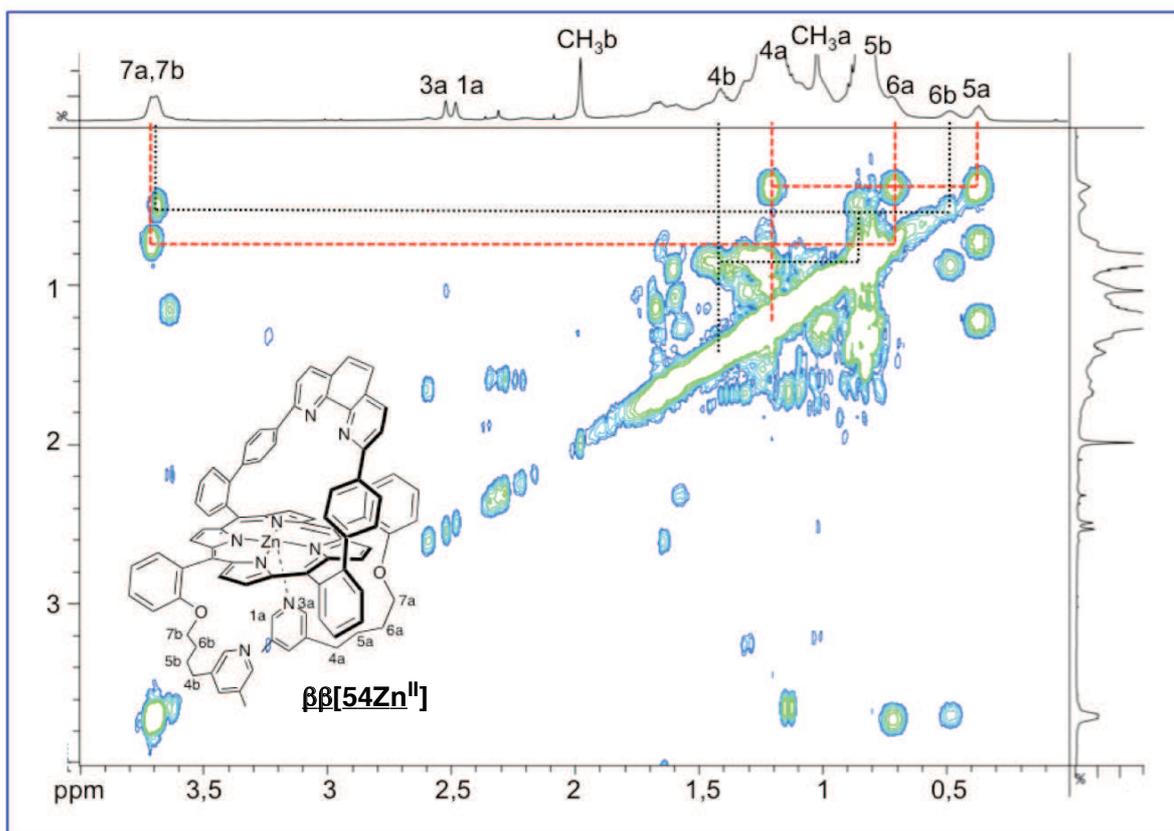


Figure 74 : agrandissement du rectangle bleu de la carte COSY à $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$ de $\beta\beta[54\text{Zn}^{\text{II}}]$.

Les deux couplages vicinaux successifs observés à partir des deux signaux H_{6a} et H_{6b} sur la **Figure 74** permettent d'attribuer les protons H_{5a} , H_{5b} , H_{4a} et H_{4b} . Les déplacements chimiques des signaux de H_{5b} et H_{4a} ne peuvent pas être déterminés de façon précise, car ils sont inclus dans les signaux se rapportant à des impuretés. La différenciation entre les protons de type a et b a été possible, grâce à l'observation d'une tâche de corrélation sur la carte ROESY à $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$ entre les protons aliphatiques H_{5b} et un signal à 7.52 ppm intégrant pour un proton attribué à H_{3b} . Les couplages scalaires de longue distance (4J) constatés sur la carte COSY à partir de ce signal, permettent l'identification des protons H_{1b} , H_{2b} et CH_3b . Les agrandissements des rectangles rouge et noir de la carte COSY sont représentés sur la **Figure 75** et la **Figure 76**.

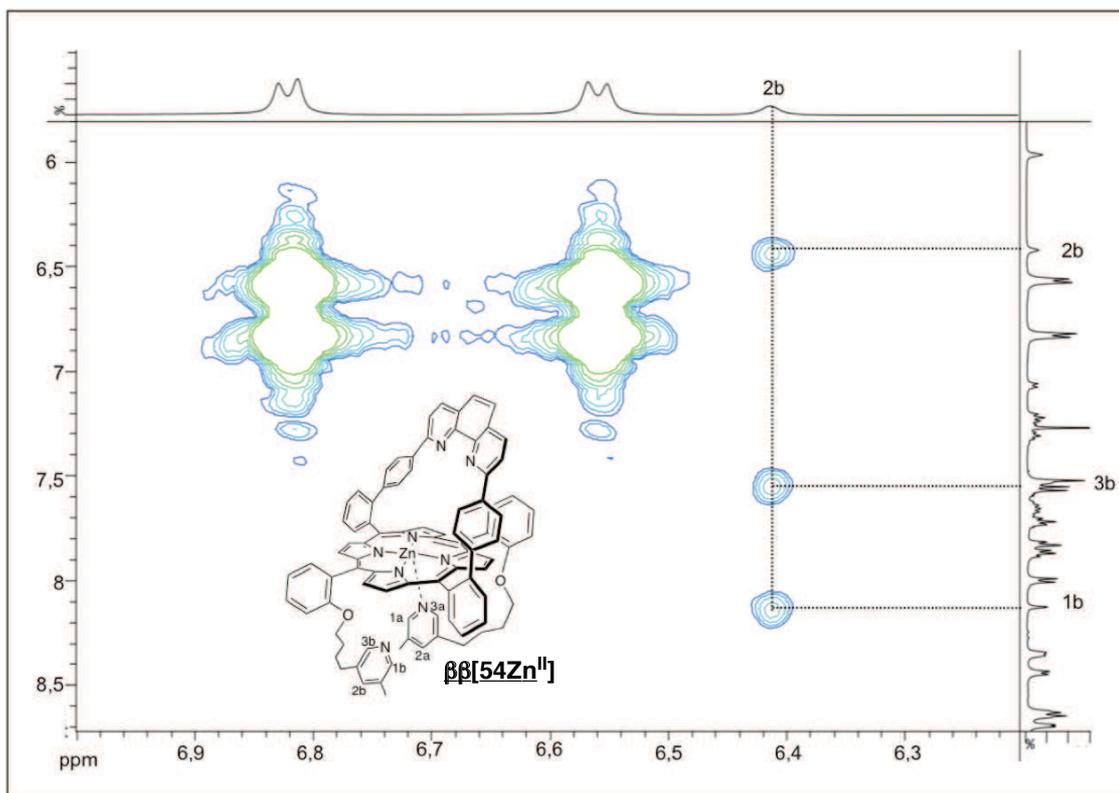


Figure 75 : agrandissement du rectangle noir de la carte COSY à $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$ de $\beta\beta[54\text{Zn}^{\text{II}}]$.

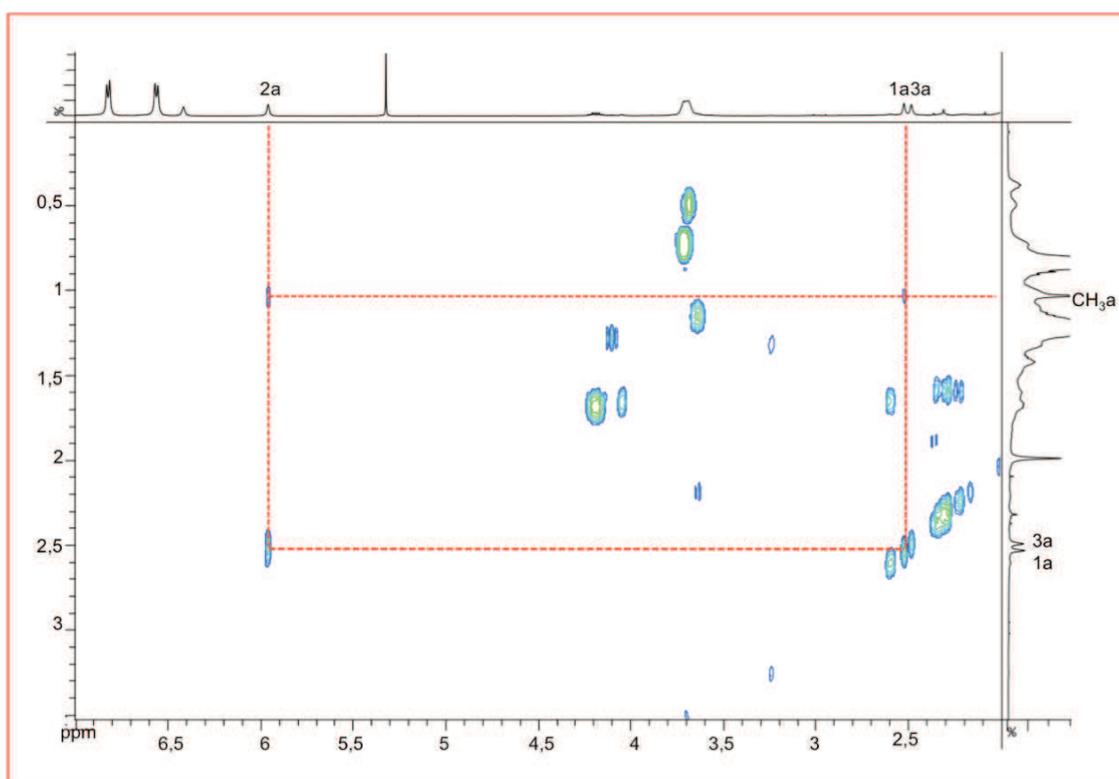


Figure 76 : agrandissement du rectangle rouge de la carte COSY à $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$ de $\beta\beta[54\text{Zn}^{\text{II}}]$.

Les signaux à 2,52 et 2,48 ppm intégrant chacun pour un proton sont assignés aux protons H_{3a} et H_{1a} respectivement. Ces déplacements chimiques sont blindés à cause du cône de d'anisotropie magnétique du macrocycle porphyrinique. Cela confirme la coordination du bras pyridinique dont les protons sont de type a sur le zinc. Enfin, par couplages scalaires en enchaînement en W constatés sur la carte COSY (**Figure 76**), les protons H_{2a} et CH_{3a} sont identifiés à 5,96 et 1,02 ppm respectivement.

1.2. Expériences de RMN ¹H à température variable

Outre l'obtention d'atropoisomères de [**54Zn^{II}**] due à la rotation autour des liaisons *meso*-aryl de la porphyrine à température ambiante, l'échange des pyridines sur le zinc dans le composé **ββ[54Zn^{II}]** à 0 °C a été observé. Nous sommes donc en présence d'un système dynamique, qui a pu être caractérisé par des expériences de RMN ¹H à -60 °C. Afin de déterminer la vitesse à laquelle les deux pyridines se coordinent et se décoordinent successivement sur le zinc, des expériences de RMN ¹H à températures variables ont été réalisées. La gamme de températures choisie s'étend de -60 °C à 0 °C, conformément aux observations établies lors des précédentes analyses en RMN ¹H. Les différents spectres unidimensionnels obtenus sont représentés sur la **Figure 77**.

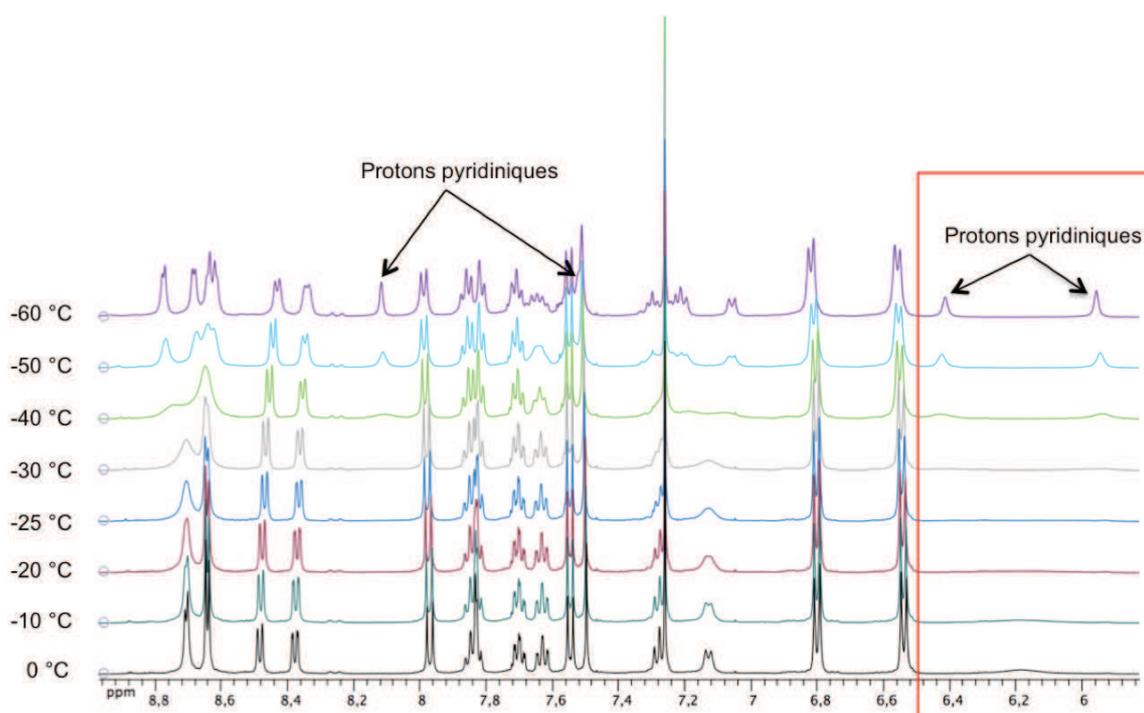


Figure 77 : spectres RMN ¹H de **ββ[54Zn^{II}]** entre -60 °C et 0 °C (CDCl₃, 500 MHz).

À 0 °C les différents conformères de $\beta\beta$ [54Zn^{II}] sont en équilibre rapide et leurs signaux en RMN ¹H sont équivalents. Les signaux des protons pyridiniques dans la zone entre 8 et 6 ppm ne sont quasiment pas visibles, hormis un signal très large à 6,18 ppm intégrant pour deux protons. En diminuant la température, l'équilibre est plus lent et l'un des conformères va être bloqué. Le signal à 6,18 ppm va doucement disparaître, jusqu'à n'être plus du tout visible à -25 °C. La température de coalescence est alors atteinte. Au-delà de cette température, deux singulets vont apparaître à 6,41 et 5,96 ppm correspondant aux protons H_{2b} et H_{2a} respectivement (**Figure 78**). De même à 8,12 et 7,52 ppm, les protons H_{1b} et H_{3b} vont émerger de la ligne de base.

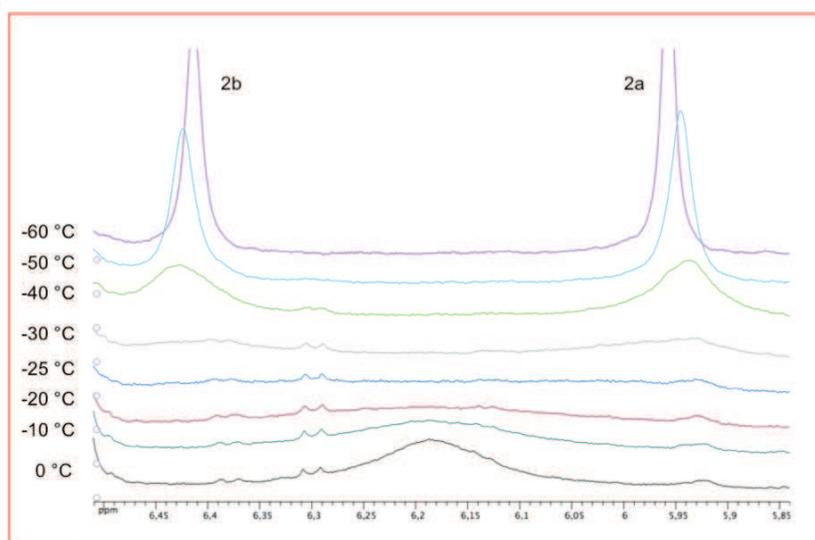


Figure 78 : agrandissement du rectangle rouge de la **Figure 76**.

À partir de la température de coalescence T_c mesurée à 248 K, la constante de vitesse d'isomérisation au point de coalescence k_{Tc} peut être mesurée.¹⁰⁸ On obtient:

$$k_{Tc} = \frac{\pi}{\sqrt{2}} |\nu_A - \nu_B| = 2,22\Delta\nu$$

avec $\Delta\nu = [\nu_A - \nu_B] = 228,61$ Hz

on obtient :

$$k_{Tc} = 507,84 \text{ Hz}$$

Le temps de demi-vie est alors : $\tau = \frac{1}{k} = \frac{1}{507,84} \approx 2 \text{ ms}$

¹⁰⁸ Günther, H. *La spectroscopie de RMN* 1994, Ed Masson.

Les pyridines s'échangent donc sur le zinc toutes les deux millisecondes, soit avec une fréquence de 500 fois toutes les secondes. À l'échelle de la molécule, ce temps est assez long, et signifie que la liaison N-Zn est relativement stable. La constante de vitesse k_{T_c} permet, à l'aide de l'équation d'Eyring, une rapide évaluation de la barrière d'énergie d'échange des pyridines donnée à la température de coalescence T_c . On a dans ce cas :

$$\frac{\pi}{\sqrt{2}} |v_A - v_B| = \frac{RT_c}{N_A h} e^{-\frac{\Delta G^\ddagger}{RT_c}}$$

$$\text{ou : } \Delta G^\ddagger = RT_c \ln \frac{RT_c \sqrt{2}}{\pi N_A h |v_A - v_B|}$$

avec $N_A = 6,022 \cdot 10^{23}$, le nombre d'Avogadro

$h = 6,6256 \cdot 10^{-34}$ J.s, la constante de Planck.

et v en Hertz

on obtient :

$$\begin{aligned} \Delta G^\ddagger &= 19 \cdot 10^{-3} T_c (9,97 + \log T_c - \log |v_A - v_B|) \\ &= 19 \cdot 10^{-3} \times 248 (9,97 + \log 248 - \log 507,84) \\ &= 45,51 \text{ kJ soit } 10,86 \text{ kcal} \end{aligned}$$

Il faut donc franchir une barrière énergétique de 45,51 kJ pour décoordonner et recoordiner successivement une pyridine sur l'atome de zinc. En comparaison, cette valeur équivaut au nombre de calories contenues dans une cacahuète ou une amande, à l'énergie dégagée par le métabolisme d'un gramme de sucre ou encore à l'énergie dégagée par la combustion d'un gramme d'essence.

1.3. Complexation avec du cuivre (I)

Pour s'assurer de l'orientation sur la face distale de la porphyrine de l'un des bras pyridiniques, l'insertion du Cu(I) dans la phénanthroline a été réalisée. Cette métallation permet de bloquer la rotation autour de la liaison *meso*-aryl de l'un des bras, par coordination de la pyridine sur le Cu(I).

Pour l'introduction du cuivre dans le composé $\beta\beta$ [54Zn^{II}], le cuivre tetrakis-acétonitrile hexafluorophosphate a été utilisé comme sel de Cu(I). En raison de l'instabilité de ce composé vis-à-vis de l'air en solution, la métallation a été réalisée sous atmosphère inerte dans un mélange acétonitrile/dichlorométhane. Le complexe bimétallique [54Zn^{II}Cu^I]⁺ obtenu a été caractérisé par spectrométrie de masse (ESI) (Figure 79).

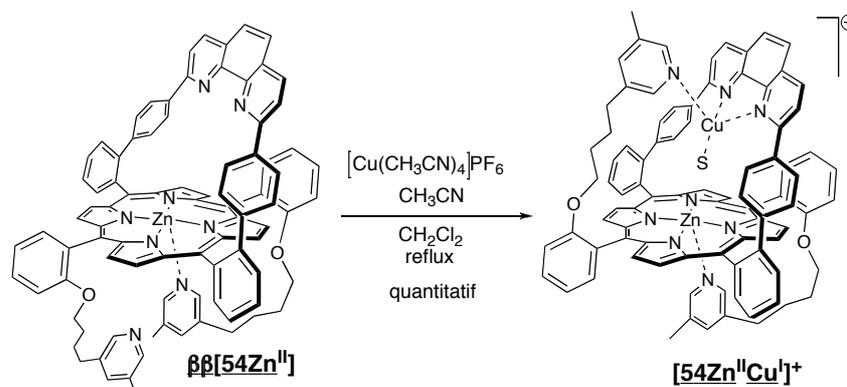


Figure 79 : synthèse du composé [54Zn^{II}Cu^I]⁺.

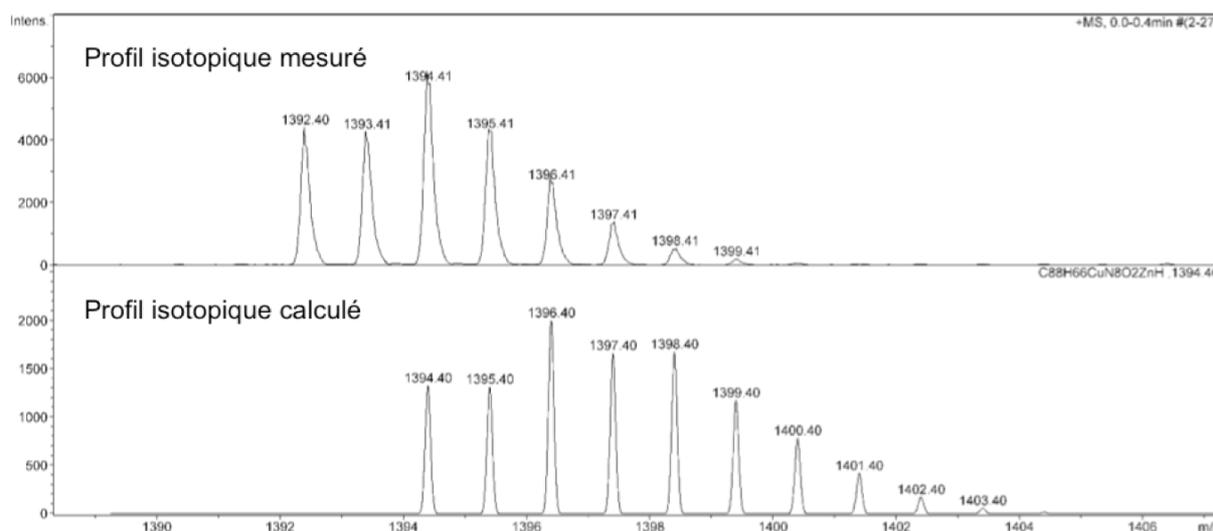


Figure 80: profil isotopique mesuré et calculé du composé [54Zn^{II}Cu^I]⁺.

Le complexe [54Zn^{II}Cu^I]⁺ a également été caractérisé par RMN ¹H (500 MHz) à 50 °C dans le chloroforme deutéré. Le spectre unidimensionnel obtenu est représenté sur les Figures 81 et 82. La comparaison avec le spectre RMN de $\beta\beta$ [54Zn^{II}] montre des changements importants dans le nombre, la multiplicité et l'intégration des signaux. Ceci suggère que les pyridines ne sont plus équivalentes et que le composé [54Zn^{II}Cu^I]⁺ obtenu possède un bras pyridinique sur la face proximale alors que l'autre est orienté sur la face distale. L'interprétation du spectre a été facilitée par l'utilisation de séquences 2D ROESY et COSY.

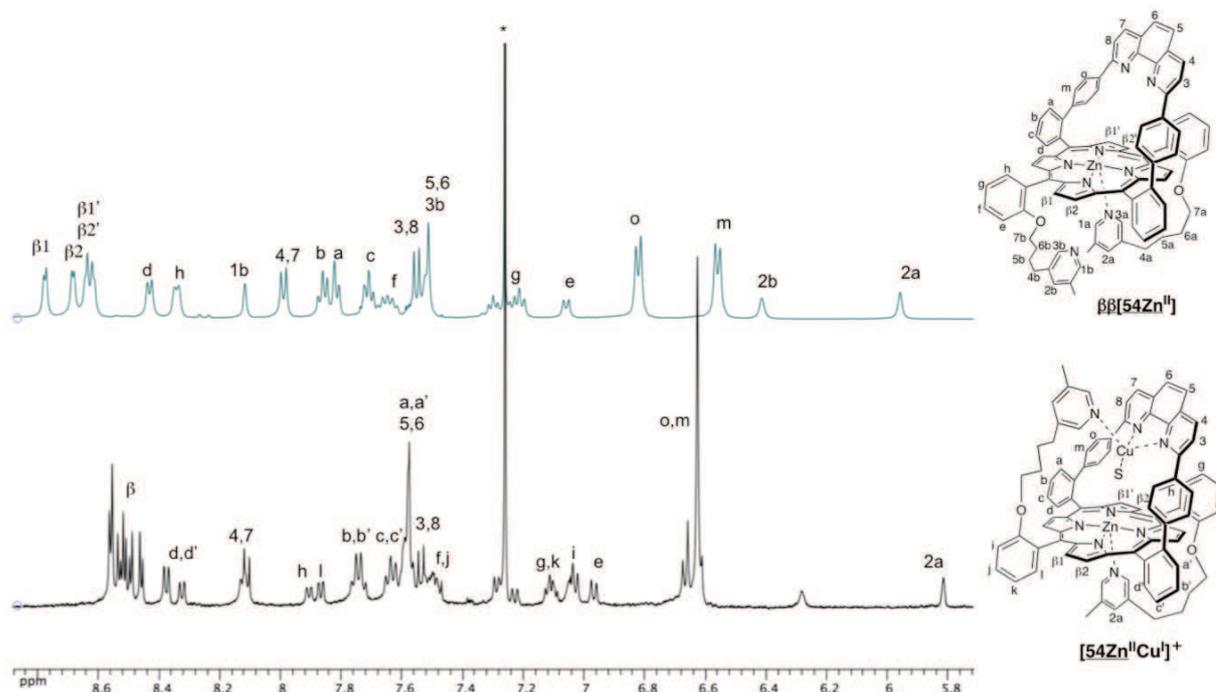


Figure 81: spectres RMN ^1H de 5,8 à 8,7 ppm des composés $\beta\beta\text{[54Zn}^{\text{II}}]$ à $-60\text{ }^\circ\text{C}$ et $[\text{54Zn}^{\text{II}}\text{Cu}^{\text{I}}]^+$ à $50\text{ }^\circ\text{C}$ dans le CDCl_3 (* : solvants).

Les protons β pyrroliques dans $[\text{54Zn}^{\text{II}}\text{Cu}^{\text{I}}]^+$ apparaissent sous la forme d'un multiplet intégrant pour huit protons à 8,45 ppm. Les protons aromatiques des groupements phényles et de la phénanthroline de l'anse sont répartis dans la fenêtre allant de 8,38 à 6,62 ppm. Dans cette zone, les protons H_o et H_m de l'espaceur phényle de l'anse phénanthroline qui résonnaient sous la forme de deux doublets caractéristiques dans le cas du composé $\beta\beta\text{[54Zn}^{\text{II}}]$ apparaissent en un signal large à 6,62 ppm intégrant pour huit protons. Ce changement provient sans doute de la coordination du cuivre par les azotes de la phénanthroline, déformant ainsi la géométrie de l'anse. En effet, le signal des protons $\text{H}_{4,7}$ n'est plus un beau doublet à 8,10 ppm, de même que les protons H_d ne sont plus équivalents. Deux doublets à 8,37 et 8,32 ppm sont observés, intégrant chacun pour un proton avec une constante de couplage de $J = 7,5\text{ Hz}$.

De même, les signaux des protons du phényle permettant l'ancrage des deux bras pyridiniques ne sont plus équivalents. Le doublet à 6,96 ppm intégrant pour un proton avec une constante de couplage $J = 7,5\text{ Hz}$ correspond au signal de H_e . Par couplages scalaires successifs observés en COSY, les signaux de H_f , H_g et H_h , ont pu être attribués. De manière similaire, le doublet à 7,86 ppm avec une constante de couplage $J = 7,5\text{ Hz}$ a été identifié comme le signal correspondant à H_i . Par corrélation sur le spectre COSY, les signaux de H_j , H_k ont été identifiés.

Le signal à 5,81 ppm intégrant pour un proton est celui de H_{2a}. Les couplages scalaires de longue distance (⁴J) constatés sur la carte COSY à partir de ce signal, permettent l'identification des protons H_{1a}, H_{3a} et CH_{3a}.

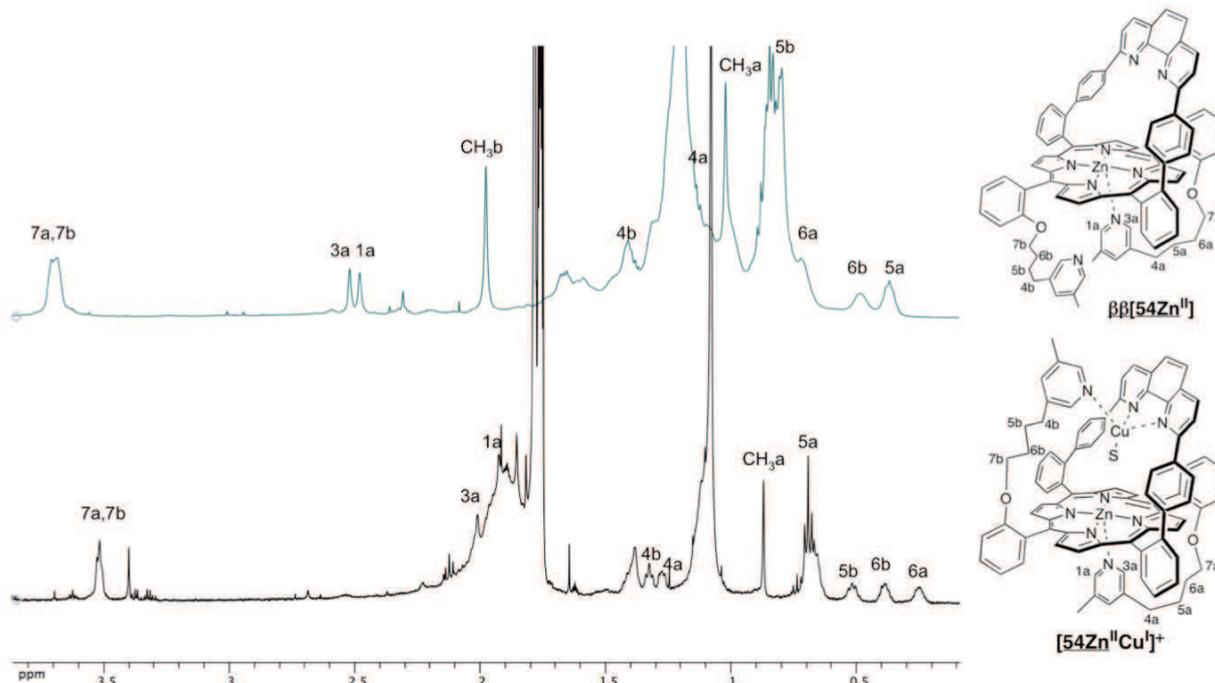


Figure 82: spectres RMN ¹H de 0 à 4 ppm des composés $\beta\beta[54Zn^{II}]$ à -60 °C et $[54Zn^{II}Cu^I]^+$ à 50 °C dans le CDCl₃ (* : solvants).

Sur la carte ROESY, une tâche de corrélation de H_e et H_i avec le signal à 3,52 ppm, permet d'identifier H_{7a} et H_{7b}, sous la forme d'un triplet intégrant pour quatre protons, avec une constante de couplage de J = 6,5 Hz. Les couplages observés à partir de ce signal sur la carte COSY permettent l'identification des protons H_{6b} dans le large signal à 0,37 ppm et H_{6a} à 0,25 ppm. Les deux couplages vicinaux successifs observés à partir de ces deux signaux permettent d'attribuer les protons H_{5a}, H_{5b}, H_{4a} et H_{4b}.

Les protons pyridiniques de type b n'ont pas pu être identifiés dans l'ensemble des signaux. Les zooms des cartes ROESY et COSY ne permettent pas de repérer des couplages avec ces protons en raison de la faible concentration du composé $[54Zn^{II}Cu^I]^+$. Cependant, à la vue des différents signaux identifiés et de la comparaison du spectre RMN ¹H obtenu avec celui de $\beta\beta[54Zn^{II}]$, il semble clair que les deux bras pyridiniques ne sont plus équivalents. Ainsi, la rotation autour de la liaison *meso*-aryl de la porphyrine permet la fixation d'une pyridine sur la face distale, complétant la sphère de coordination du cuivre.

II. Étude du complexe de fer du modèle de cytochrome *c* oxydase

Grâce aux différentes expériences RMN du proton réalisées sur les complexes de zinc de **[54Zn^{II}]**, les phénomènes dynamiques supposés ont été établis. Le passage à la chimie de coordination du fer permet par la suite l'étude de la coordination distale de **[54Fe^{III}]⁺** en présence de ligands exogènes. L'utilisation du fer offre un sixième site de coordination et permet de suivre l'évolution de la géométrie du complexe par UV-Visible et RPE.

II.1. Complexation avec le fer (III)

Le mélange **[54Zn^{II}]** a dans un premier temps été démétallé en milieu acide (acide trifluoroacétique) pour fournir la porphyrine **56** (Figure 83). Cet intermédiaire a ensuite été métallé au fer (II) en modifiant un procédé déjà décrit dans la littérature.¹⁰⁹ La métallation est réalisée sous atmosphère d'argon par réaction avec le chlorure ferreux en présence de 2,6-lutidine dans le THF à reflux. Le solide obtenu est séché sous vide avant d'être repris au chloroforme puis traité par bullage de HCl gazeux. Cette étape a pour but de déplacer tout ligand exogène axial (en particulier) pouvant se complexer avec la porphyrine de fer(III). Ainsi, le complexe de fer **[54Fe^{III}]⁺** a été obtenu avec un rendement quantitatif, sous la forme d'un mélange d'atropoisomères.

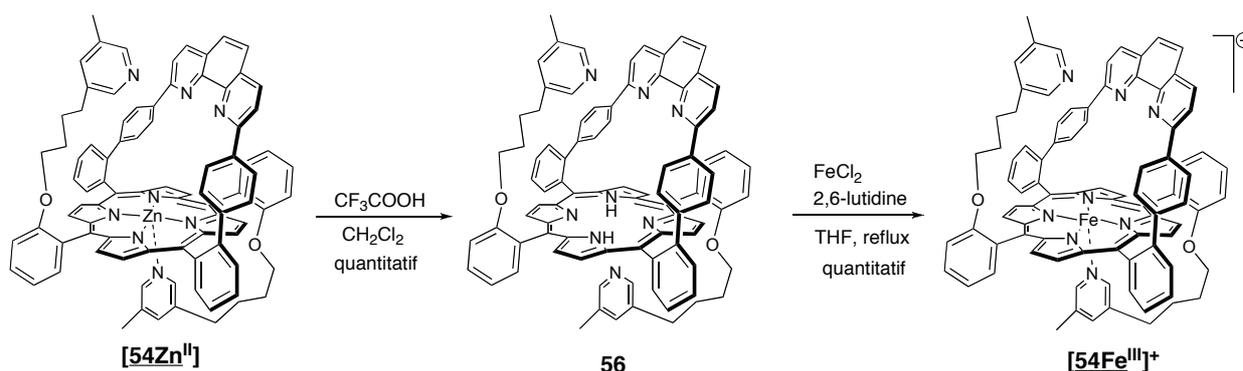


Figure 83: synthèse du complexe de fer **[54Fe^{III}]⁺**.

¹⁰⁹ Weyermann, P.; Gisselbrecht, J-P.; Boudon, C.; Gross, M.; Diederich, F. *Helv. Chim. Acta* **2002**, *85*, 571.

Le complexe de fer $[54\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ a été caractérisé par spectrométrie de masse à haute résolution utilisant la technique d'ionisation « electrospray ». Cette caractérisation a permis de mettre en évidence la pureté du complexe obtenu. En effet, le spectre de masse obtenu ne montre qu'un seul pic correspond à l'ion moléculaire $[54\text{Fe}^{\text{III}}]$ du complexe $[54\text{Fe}^{\text{III}}]$ qui aurait perdu Cl^- . Ceci est confirmé par la comparaison entre le profil isotopique mesuré et le profil isotopique calculé, qui met également en évidence l'absence de composé de type hydroxo ou de tout autre ligand axial exogène.

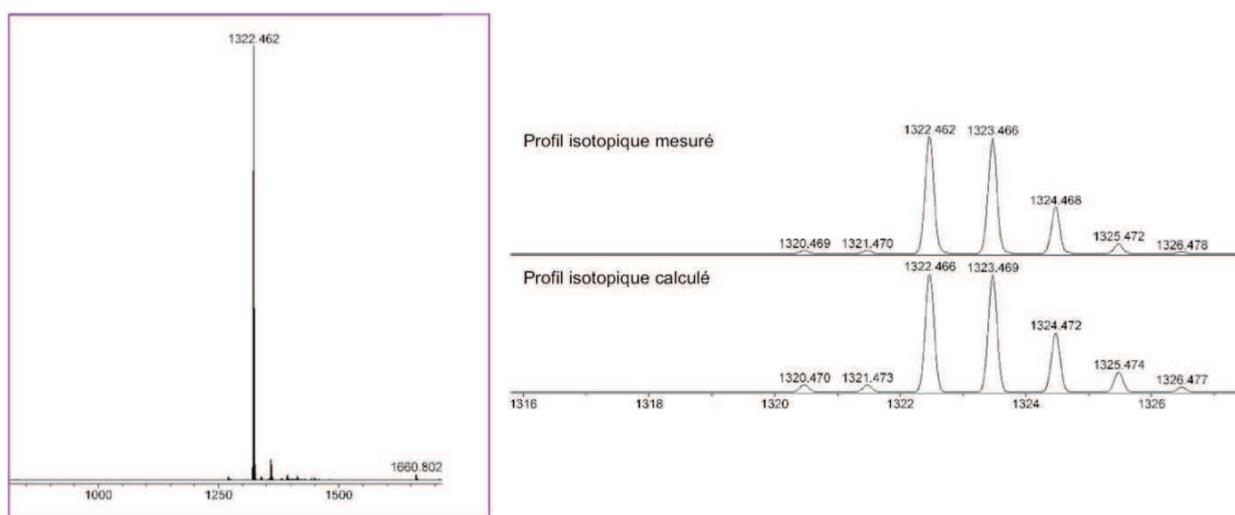


Figure 84: spectre de masse « electrospray » à haute résolution de $[54\text{Fe}^{\text{III}}]^+$.

Pour obtenir plus d'informations sur l'environnement de fer(III) et plus particulièrement sur le nombre exact de coordinants axiaux, la caractérisation de son état de spin par spectroscopie RPE s'est avérée être une technique de choix.

II.2. Caractérisation par résonance paramagnétique électronique

Le fer(III) comporte cinq électrons dans sa couche externe d ; c'est un métal d^5 . La structure électronique des complexes pouvant être formés à partir du fer(III), dépend de la nature des ligands qui lui sont associés. Ainsi, l'ion ferrique peut présenter plusieurs états de spin, dont les plus couramment rencontrés en biologie¹¹⁰ sont l'état bas spin $S = 1/2$ et l'état haut spin $S =$

¹¹⁰ La Mar, G. N.; Satterlee, J. D.; De Ropp, J. S. *The Porphyrin Handbook* **2000**, 5, 212, Academic Press.

5/2, l'état de spin intermédiaire $S = 3/2$ étant le moins courant. Les occupations des orbitales d pour chacun de ces trois sont représentées sur la **Figure 85**.

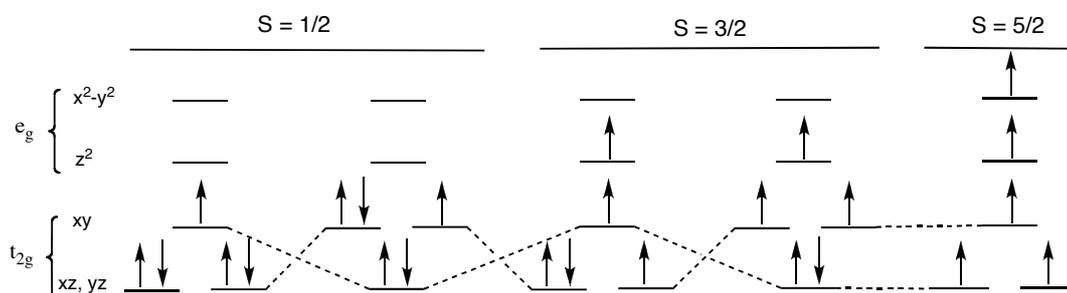


Figure 85: configurations électroniques possibles du fer(III) dans les systèmes biologiques.

Dans le cas d'espèces pentacoordinées ou hexacoordinées par des ligands à champ fort (imidazole, pyridine...), l'état bas spin est généralement rencontré. À l'inverse, lorsque le fer(III) est pentacoordiné par des ligands à champ faible (Cl^- , Br^- ...), l'état haut spin est observé. Dans tous les cas les complexes formés à partir de fer(III), comme les porphyrines ferriques, sont paramagnétiques en raison d'un ou de plusieurs électrons non appariés.

L'étude de tels édifices contenant des électrons non appariés est réalisée par résonance paramagnétique électronique (RPE). Cette technique repose sur l'interaction d'un champ magnétique B_0 et d'un moment magnétique permanent d'origine électronique μ (effet Zeeman électronique). Lorsqu'un champ magnétique B_0 est appliqué à un électron, une levée de dégénérescence de spin a lieu avec apparition de deux niveaux d'énergie (**Figure 86**).

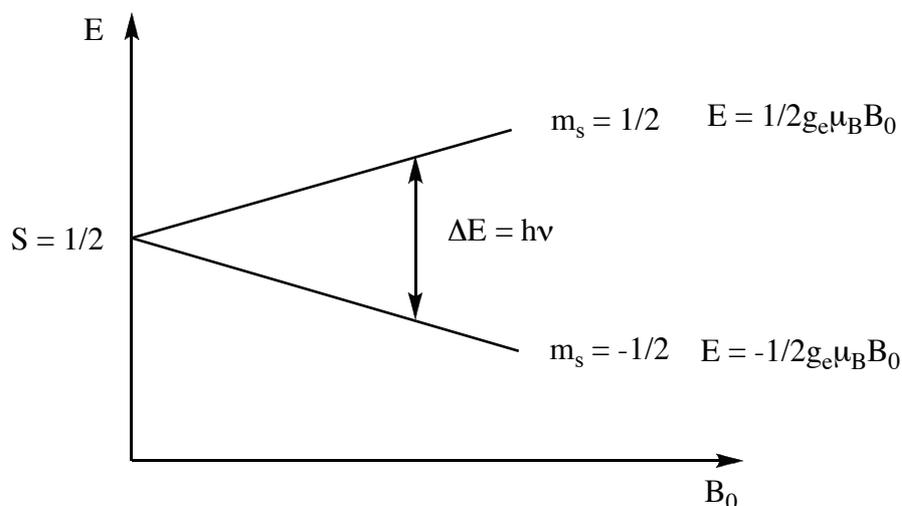


Figure 86 : effet du champ magnétique sur un système de spin électronique $S = 1/2$.

Quand un autre champ B_1 , dont la fréquence ν correspond à la séparation des deux niveaux d'énergie, est appliqué, une transition résonnante entre ces deux états se produit à la condition de résonance :

$$E = h\nu = g\mu_B B_0$$

Avec :

$h = 6,6256 \cdot 10^{-34}$ J.s, la constante de Planck.

ν la fréquence du spectromètre en Hz

g le facteur de Landé

$\mu_B = 9,274 \cdot 10^{-24}$ J/T, le magnéton de Bohr

B_0 le champ magnétique en T

Le principe de la RPE repose sur la détection de cette transition. Lorsqu'un composé paramagnétique possède un $S > 1/2$, il faut prendre en compte l'écart à champ nul D (« zero field splitting »). Dans le cas des porphyrines de fer(III) haut spin de symétrie axiale, l'écart à champ nul est très important, séparant l'état de plus basse énergie $I \pm 1/2$ des autres états $I \pm 3/2$ et $I \pm 5/2$ de 5 à 10 cm^{-1} .¹¹¹ L'énergie apportée par le spectromètre ($\sim 0,3 \text{ cm}^{-1}$ à 9,4 GHz) permet seulement d'observer la transition entre les états d'énergie $I \pm 1/2$.

Le tenseur g est caractéristique de l'environnement de l'électron et est directement lié à la théorie du champ des ligands. Il provient du couplage spin-orbite et compte tenu de la symétrie axiale des porphyrines de fer(III) se ramène à la connaissance du tenseur de symétrie axiale $g_{\parallel} = g_{zz}$ et $g_{\perp} = g_{xx} = g_{yy}$.

Les différents spectres RPE obtenus (bande X, fréquence $\nu = 9,4$ GHz) ont été réalisés en collaboration avec le Dr Sylvie Choua du laboratoire des Propriétés Optiques et Magnétiques des Architectures Moléculaires, dirigé par le Pr Philippe Turek à l'Institut de Chimie de Strasbourg. Le spectre du complexe $[\text{54Fe}^{\text{III}}]^+$ a été enregistré en solution gelée à 6 K dans du dichlorométhane à une concentration de $1,59 \cdot 10^{-4} \text{ M}^{-1}$ (**Figure 87**). Ce spectre est caractéristique d'un complexe de fer(III) pentacoordiné haut spin ($S = 5/2$) déjà observé pour les **Porphen** de fer(III),⁷⁷ confirmé par les valeurs du tenseur g ($g_{\perp} = 5,86$ et $g_{\parallel} = 2,06$).

¹¹¹ Tang, S. C.; Koch, S., Papaefthymiou, G. C.; Foner, S., Frankel, R. B.; Ibers J. A.; Holm, R. H. *J. Am. Chem. Soc.*, **1976**, 98, 2414.

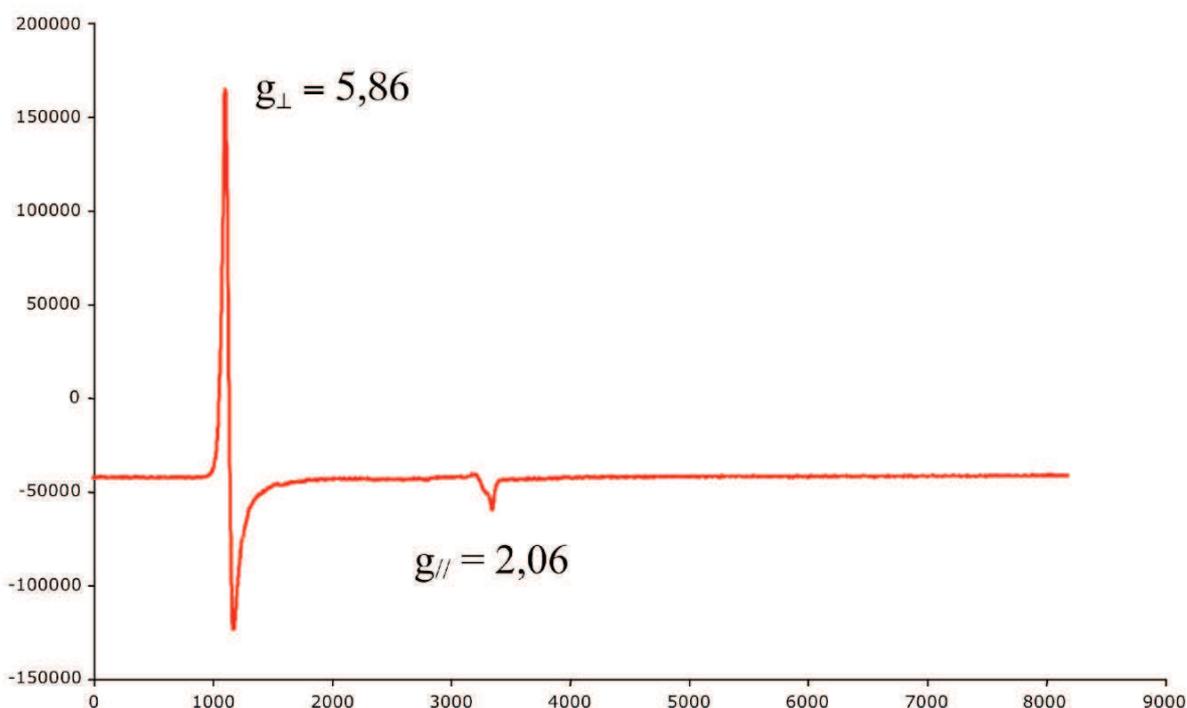


Figure 87 : spectre RPE de $[^{54}\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ dans le dichlorométhane $C = 1,59 \cdot 10^{-4} \text{ M}^{-1}$ à 6 K.

II.3. Étude de la coordination distale par des ligands exogènes

La caractérisation par RPE du composé $[^{54}\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ a mis en évidence une géométrie pentacoordinée autour du fer(III). Le suivi par RPE et spectroscopie UV-Visible du complexe $[^{54}\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ en présence de ligands exogènes (imidazole, 2-méthylimidazole, N-méthylimidazole et pyridine) a permis d'étudier ses propriétés de coordination distale. Les constantes d'association correspondantes ont été déterminées par le Dr Mourad El Habiri du Laboratoire de Chimie Bioinorganique Médicinale, dirigé par le Dr Elisabeth Davioud-Charvet à Cronenbourg.

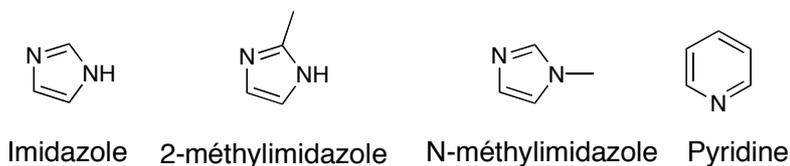


Figure 88 : ligands exogènes utilisés pour la coordination distale.

II.3.1. Cas de l'imidazole

Le dosage de $[54\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ en solution dans le dichlorométhane ($C = 3,02 \cdot 10^{-5} \text{ M}^{-1}$) a été à réalisé à température ambiante par ajout successif de 0,1 équivalent d'une solution d'imidazole. Au-delà d'un équivalent d'imidazole ajouté, plus aucune évolution en UV-Visible n'est observée. Les différents spectres obtenus sont représentés sur la **Figure 89**.

L'addition successive d'imidazole n'entraîne aucun déplacement de la bande de Soret à 428 nm, mais un effet hyperchrome. Les changements les plus significatifs ont lieu au niveau des bandes Q et des bandes de la phénanthroline, accompagnés par deux points isobestiques à 303 et 315 nm. La disparition de la bande à 512 nm, de l'épaule à 658 nm et l'apparition d'une nouvelle bande à 553 nm sont caractéristiques de la formation d'une espèce hexacoordinée.¹¹² Au niveau de la phénanthroline, la disparition de la bande à 278 nm entraîne l'apparition d'une bande à 310 nm. Cette modification a pour origine la formation d'une liaison hydrogène dans la cavité, entre le proton porté par l'azote de l'imidazole et les azotes de la phénanthroline. Ce complexe d'inclusion est stable, avec une constante d'association $\log (K_{\text{Im}}) = 5,44$ (CH_2Cl_2 , 25 °C).

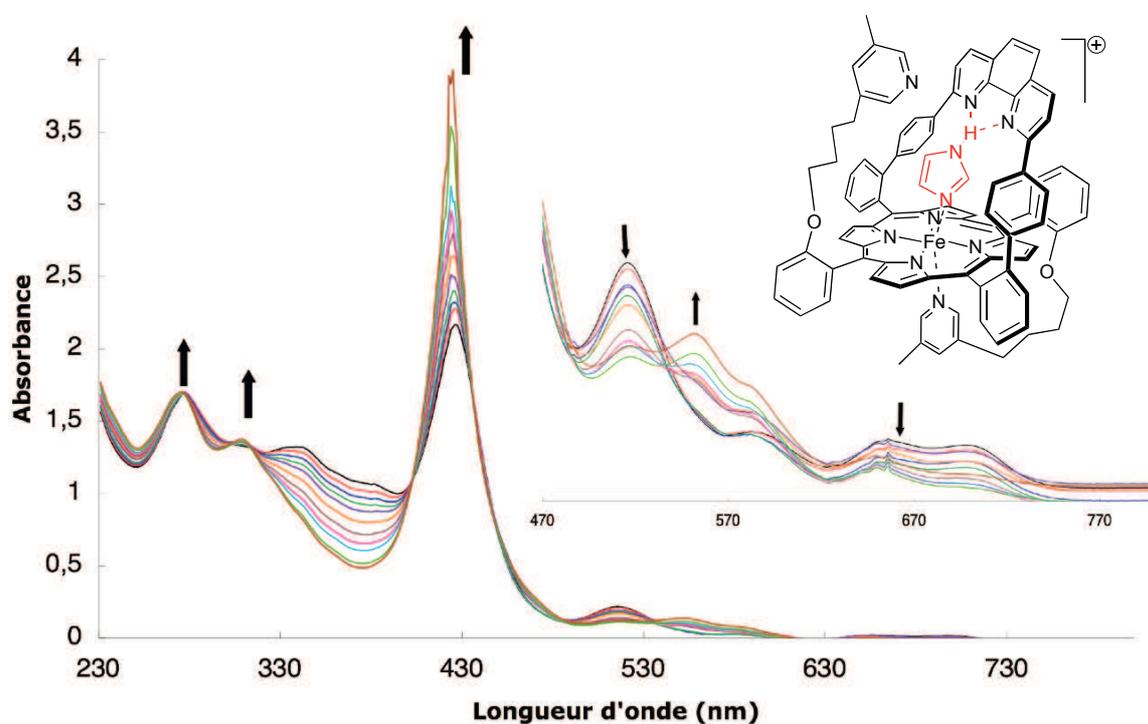


Figure 89 : dosage du complexe $[54\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ par une solution d'imidazole dans le dichlorométhane.

¹¹² Walker, F. A.; Man-Wai, L.; Ree, M. T. *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, 98, 5552.

La géométrie hexacoordinée observée en UV-Visible a été confirmée par utilisation de la spectroscopie RPE. L'addition d'imidazole au complexe $[\text{54Fe}^{\text{III}}]^+$ dans le dichlorométhane ($C = 1,59 \cdot 10^{-4} \text{ M}^{-1}$) est réalisée à température ambiante. La solution obtenue est ensuite gelée et les spectres RPE sont enregistrés à 6 K en bande X ($\nu = 9,4 \text{ GHz}$). L'ajout d'un équivalent d'imidazole fait apparaître un nouveau signal ($g = 3,29$), pouvant être attribué au complexe de fer(III) bas spin $S = 1/2$.¹¹³ La présence résiduelle des signaux initiaux ($g_{\perp} = 5,86$ et $g_{\parallel} = 2,06$) correspondant au complexe de fer(III) haut spin est sans doute due à l'équivalence qui n'est pas totalement atteinte. La disparition totale des signaux haut spin est observée après l'addition de deux équivalents d'imidazole.

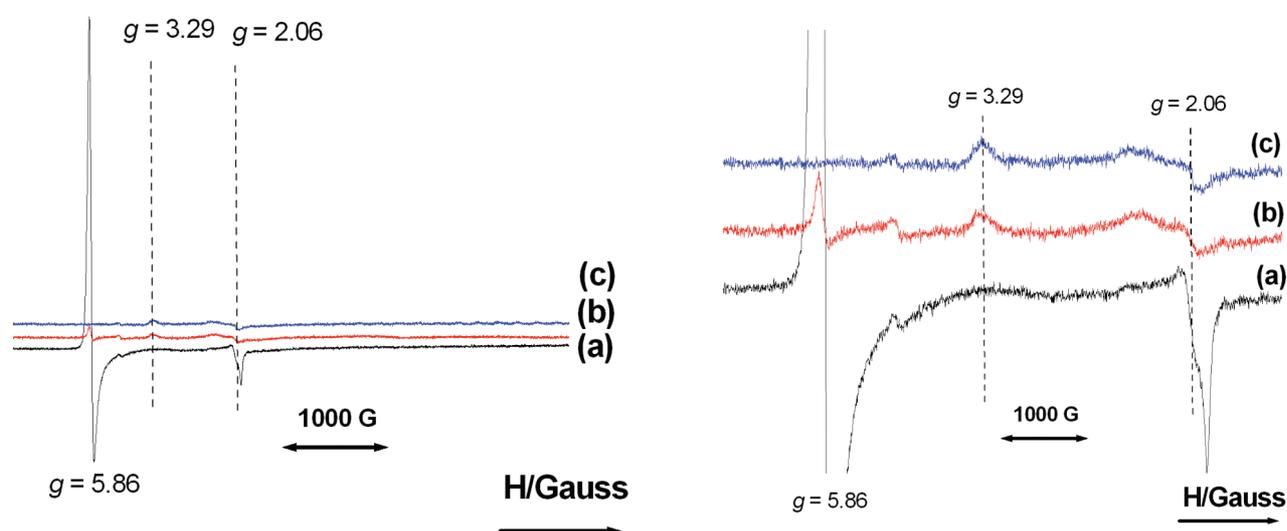


Figure 90 : à gauche, spectre RPE de $[\text{54Fe}^{\text{III}}]^+$ (a) dans le dichlorométhane en présence d'un (b) et deux (c) équivalents d'imidazole à 6 K. A droite, agrandissement du spectre.

II.3.2. Cas du 2-méthylimidazole

La même solution de $[\text{54Fe}^{\text{III}}]^+$ dans le dichlorométhane a été dosée par une solution de 2-méthylimidazole, dans des conditions identiques au premier dosage. Comme précédemment, plus aucune évolution n'est constatée par spectroscopie UV-Visible au-delà de l'ajout d'un équivalent de 2-méthylimidazole. L'ensemble des spectres obtenus est représenté sur la **Figure**

¹¹³ a) Yatsunyk, L. A.; Walker, F. A. *Inorg. Chem.* **2004**, *43*, 757, b) Walker, F. A.; Reis, D.; Balke, V. L. *J. Am. Chem. Soc.*, **1984**, *106*, 6888.

91. L'allure des courbes obtenues avec le 2-méthylimidazole est identique à celles obtenues avec l'imidazole. Un léger déplacement bathochrome ($428 \rightarrow 424$ nm) est observé pour la bande de Soret, ainsi que l'apparition de la bande à 553 nm caractéristique de la formation d'un complexe hexacoordiné. Les bandes de la phénanthroline subissent les mêmes modifications que dans le cas de l'imidazole, dues à la formation de la liaison hydrogène dans la cavité. Le complexe formé est stable, avec une constante d'association de $\log(K_{2lm}) = 6,1$ (CH_2Cl_2 , 25°C).

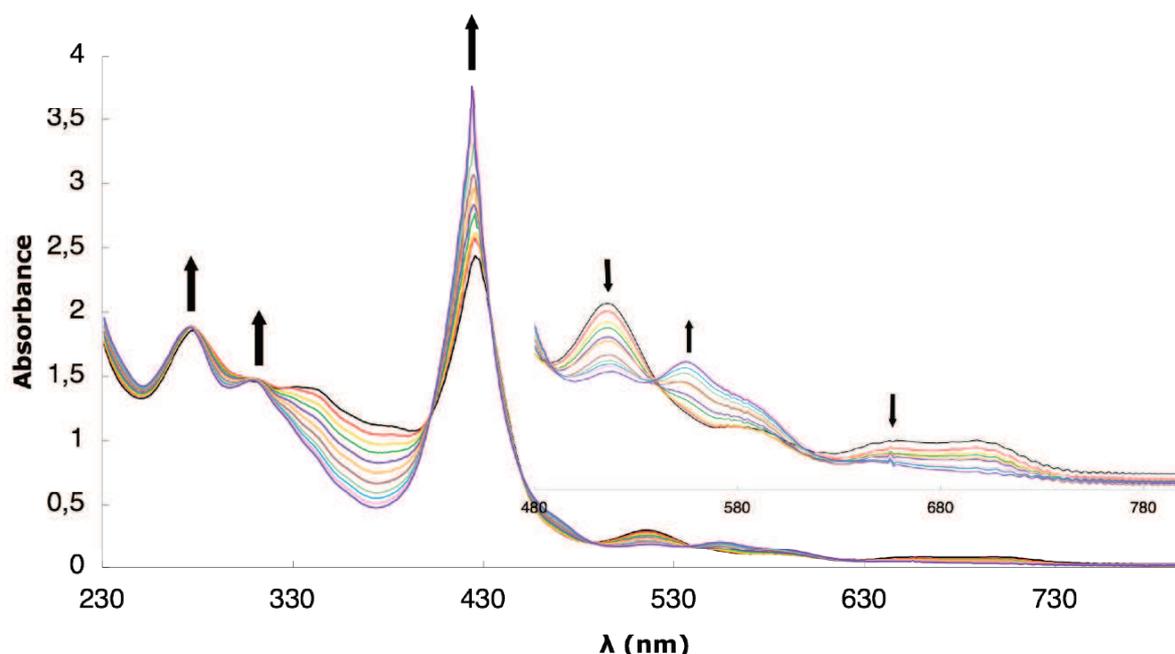


Figure 91: dosage du complexe $[\text{54Fe}^{\text{III}}]^+$ par une solution de 2-méthylimidazole dans le dichlorométhane.

Les résultats en RPE avec le 2-méthylimidazole sont comparables à ceux obtenus avec l'imidazole. En effet après l'ajout d'un équivalent de ligand, les signaux caractéristiques $g = 3,29$ et $g = 2,06$ d'un complexe de fer(III) bas spin hexacoordiné sont observés sur le spectre. Comme précédemment, il reste un peu de fer(III) haut spin résiduel qui disparaît après l'ajout de deux équivalents de 2-méthylimidazole.

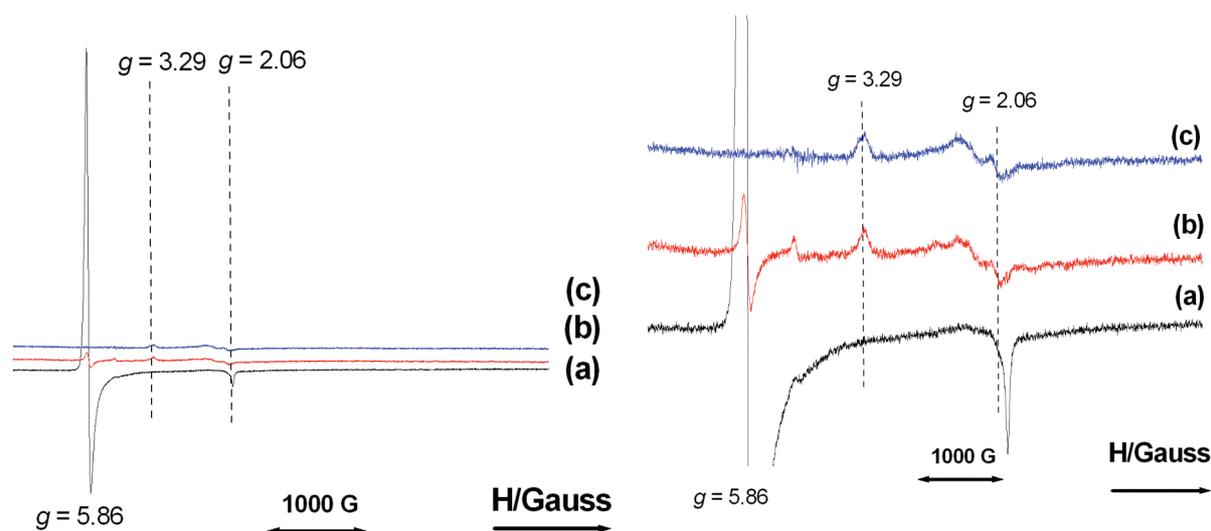


Figure 92: à gauche, spectre RPE de $[54\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ (a) dans le dichlorométhane en présence d'un (b) et deux (c) équivalents de 2-méthylimidazole à 6 K. A droite, agrandissement du spectre.

II.3.3. Cas du N-méthylimidazole

L'addition de N-méthylimidazole sur le complexe $[54\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ en solution dans le dichlorométhane a également été suivie par UV-Visible à température ambiante. Comme dans les deux cas précédents, l'ajout se fait successivement de 0,1 équivalent en 0,1 équivalent. Au bout d'un équivalent, plus aucune évolution n'est constatée sur le spectre. L'ensemble des données obtenues sont représentées sur la **Figure 93**. La bande de Soret présente un léger déplacement bathochrome ($428 \rightarrow 424$ nm), et les signaux des bandes Q subissent les mêmes modifications qu'en présence d'imidazole ou de 2-méthylimidazole, suggérant la formation d'une espèce hexacoordinée avec une constante d'association de $\log(K_{\text{NIm}}) = 5,64$. L'absence de changement dans la région spectrale des bandes de la phénanthroline s'explique par l'impossibilité de former une liaison hydrogène dans le cas d'un imidazole N substitué.

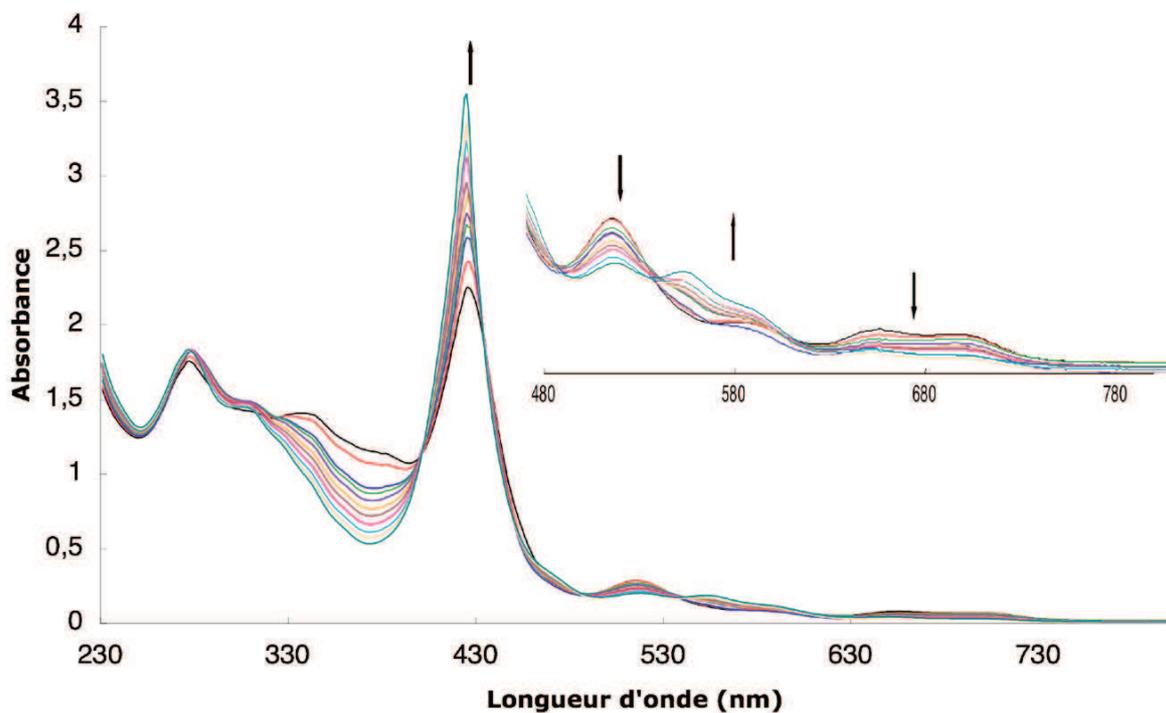


Figure 93 : dosage du complexe $[54\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ par une solution de N-méthylimidazole dans le dichlorométhane.

L'évolution du spectre RPE dans le cas du N-méthylimidazole montre qu'après l'ajout d'un équivalent de ligand, l'espèce pentacoordinée de départ a disparu. Ceci entraîne l'apparition d'une espèce hexacoordinée bas spin $S = 1/2$.

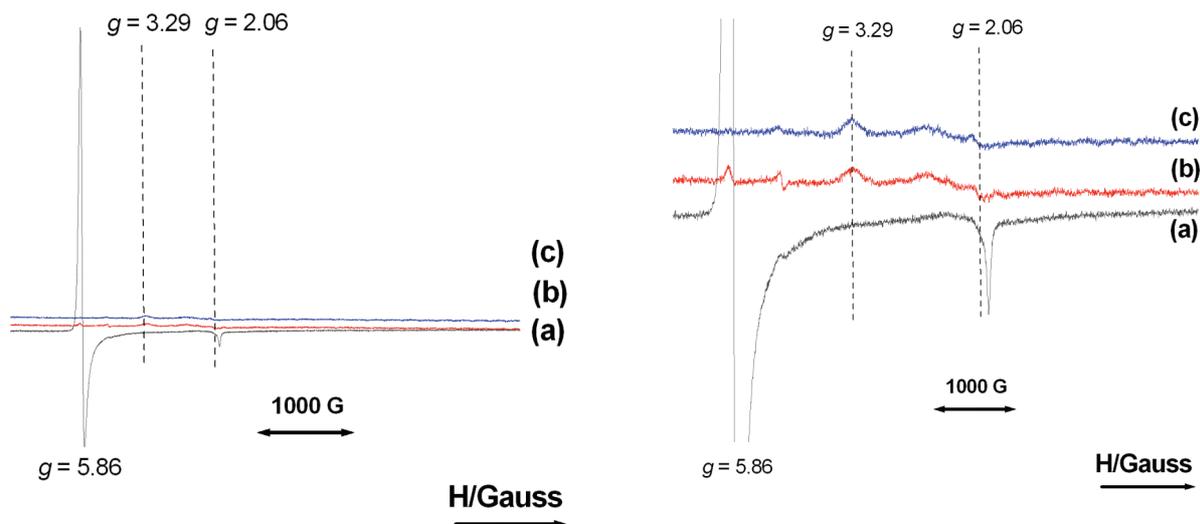


Figure 94 : à gauche, spectre RPE de $[54\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ (a) dans le dichlorométhane en présence d'un (b) et deux (c) équivalents de N-méthylimidazole à 6 K. A droite, agrandissement du spectre.

II.3.4. Cas de la pyridine

Enfin, pour terminer ces études, le complexe $[54\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ a été étudié en présence de pyridine. Le dosage a été effectué dans les mêmes conditions que pour les dérivés d'imidazole. Les différents spectres obtenus jusqu'à l'ajout d'un équivalent sont représentés sur la **Figure 95**. Les bandes de la phénanthroline ne montrent aucune évolution, car comme pour le N-méthylimidazole, aucune liaison hydrogène entre la pyridine et les atomes d'azote de la phénanthroline n'est possible. Les variations de la bande de Soret et des bandes Q sont comparables aux cas précédents. Un complexe hexacoordiné est formé avec une constante d'association de $\log(K_{\text{py}}) = 4,86$.

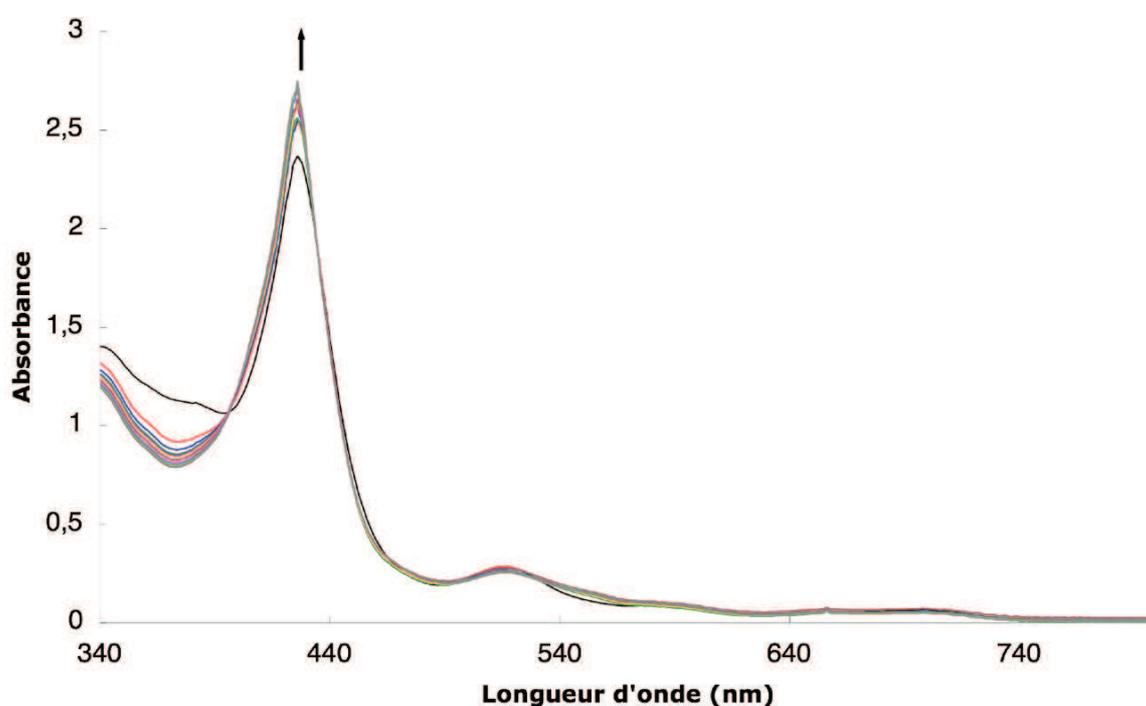


Figure 95 : dosage du complexe $[54\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ par une solution de pyridine dans le dichlorométhane.

II.3.5. Récapitulatif

L'étude de la coordination axiale de la porphyrine $[54\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ par des ligands exogènes met en évidence la formation d'un composé hexacoordiné. Dans tous les cas, le suivi par RPE et spectroscopie UV-Visible ne montre plus aucune évolution des spectres après l'ajout d'un équivalent de base. Des complexes [1-1] sont alors obtenus.

Les valeurs de ces constantes d'association varient en fonction du pKa de la base utilisée. Plus le ligand sera basique, plus l'association sera forte. Cette tendance est illustrée sur le graphique de la **Figure 96**. Ainsi, dans le cas de la pyridine, dont le pKa = 5,23, la constante d'association sera la plus faible. Avec le 2-méthylimidazole, dont le pKa = 7,75, la constante d'association sera la plus forte.

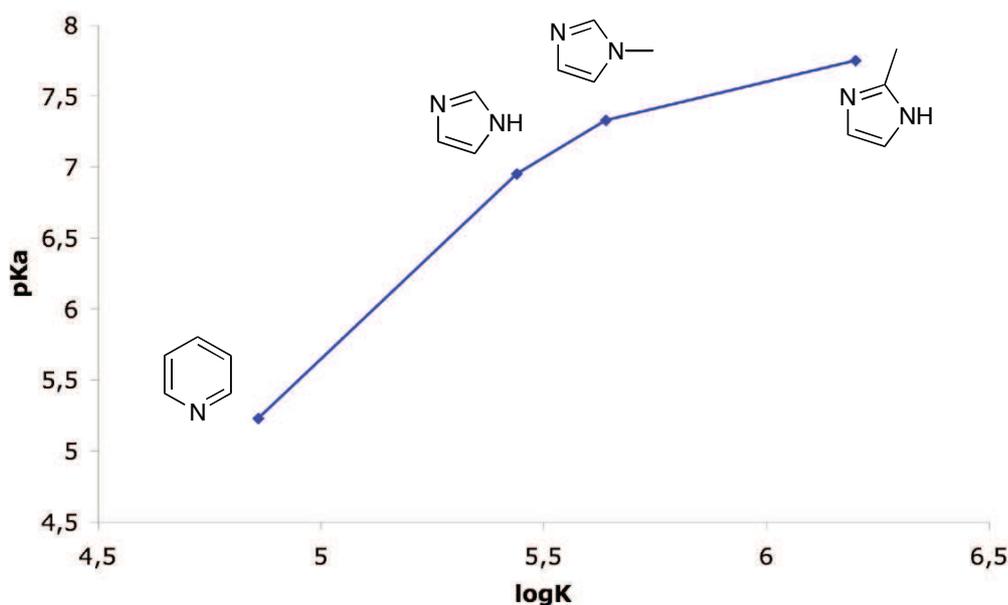


Figure 96 : graphique $pK_a = f(\log K)$ des différents ligands exogènes utilisés.

Ces mêmes études ont été réalisées sur le modèle précédent de cytochrome *c* oxydase du Dr M. Lo (**Figure 97**). Les résultats obtenus lorsque L = imidazole, 2-méthylimidazole ou N-méthylimidazole mettaient en évidence les formations concurrentes du complexe [1 récepteur/1 substrat] et d'un complexe [1 récepteur/2 substrats] correspondant à la coordination de deux équivalents de base. Dans le cas de l'imidazole, la constante d'association du complexe intermédiaire [1-1] n'a pas pu être déterminée. Le ligand L se coordine indifféremment sur la face proximale où il est stabilisé par liaison hydrogène avec la pyridine axiale, ou sur la face distale par formation d'une liaison hydrogène avec les azotes de la phénanthroline ou du bras pyridinique. La liaison hydrogène entre l'imidazole et la pyridine distale entraîne alors une tension au niveau du bras, fragilisant ainsi la coordination du bras proximal sur le fer(III). Un deuxième équivalent d'imidazole peut donc venir se coordonner pour former un complexe [1-2]. Dans les cas du 2-méthylimidazole et du N-méthylimidazole deux complexes ont bien été identifiés, avec des constantes d'association plus fortes dans le cas du 2-méthylimidazole en raison de la formation de liaisons hydrogène.

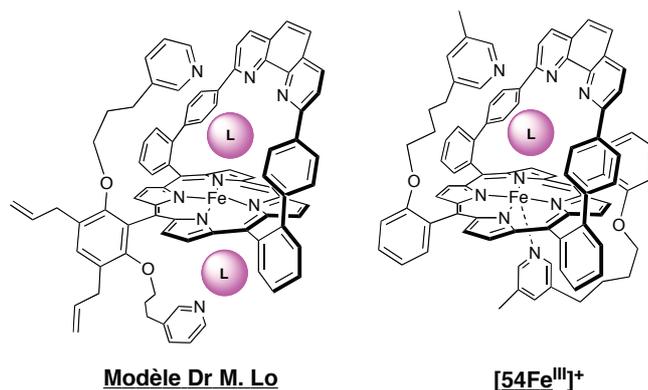


Figure 97 : formation de complexes [1-2] (L = imidazole, 2-méthylimidazole et N-méthylimidazole) pour le modèle du Dr M. Lo (à gauche) et de [1-1] pour le composé $[54\text{Fe}^{\text{III}}]^+$.

Dans le cas du composé $[54\text{Fe}^{\text{III}}]^+$, l'ajout de plus d'un équivalent de l'ensemble de ces ligands ne va pas conduire à la formation d'une seconde espèce. Le découplage des deux bras pyridiniques sur les deux positions *meso* de la porphyrine permet de contourner les problèmes de tension de la précédente génération de modèle de cytochrome *c* oxydase. La base axiale proximale n'est pas donc déplacée et reste coordonnée au fer. Aucune labilité des bras pyridiniques n'est observée pour ce complexe.

La coordination de la pyridine fournit pour les deux modèles un complexe [1-1]. Pour le composé du Dr M. Lo, la pyridine s'insère dans la cavité avec une constante d'association relativement faible. Le fer(III) pentacoordiné légèrement en-dehors du plan de la porphyrine va rentrer dans le plan à l'approche de la pyridine sur la face distale. Ce mouvement va créer de la tension sur le bras proximal rigide qui va se déformer. Dans le cas du composé $[54\text{Fe}^{\text{III}}]^+$, la constante d'association est plus élevée. L'absence de tension au niveau des deux bras pyridiniques découplés n'entraîne pas de déformation du système qui permet à la pyridine de se coordiner sur la face distale.

III. Conclusion

Les différentes expériences RMN ^1H (unidimensionnelle et bidimensionnelle) à 0 °C ont permis de caractériser un des atropoisomères isolé après le greffage des bras pyridiniques comme étant le composé $\beta\beta[54\text{Zn}^{\text{II}}]$. Cependant, les signaux des protons pyridiniques n'ont pas pu être totalement attribués. En effet, outre la rotation autour de la liaison *meso*-aryl de la

porphyrine, les pyridines s'échangent toute les 2 ms sur l'atome de zinc. Ce système dynamique a pu être figé à -60 °C, et grâce à des analyses de RMN ^1H les deux pyridines ont été différenciées. L'insertion de cuivre(I) dans la phénanthroline a par la suite mis en évidence l'orientation d'un des bras pyridinique sur la face distale, fournissant le complexe bimétallique $[\mathbf{54Zn}^{\text{II}}\text{Cu}^{\text{I}}]^+$. Pour étudier la réactivité vis-à-vis du dioxygène, le zinc a été remplacé par du fer(III). Le complexe de fer(III) haut spin $[\mathbf{54Fe}^{\text{III}}]^+$ obtenu a été caractérisé par RPE puis étudié en présence différents ligands exogènes. Dans tous les cas, la formation d'un complexe [1-1] est observée avec des constantes d'association variant en fonction du pKa des bases utilisées. Le découplage des bras pyridiniques et l'insertion d'un carbone supplémentaire sur la chaîne alkyle permettent de contourner les problèmes de tension constatés sur des modèles précédents. Ainsi, la base proximale reste bien coordonnée sur l'atome de fer. Le chapitre suivant traitera du comportement des complexes de fer et de fer/cuivre en présence de dioxygène. Les différents résultats obtenus en UV-Visible, RMN ^1H et spectroscopie vibrationnelle seront décrits, ainsi que les propriétés rédox du modèle.

CHAPITRE IV :

Réactivité des complexes de fer et de fer/cuivre du modèle de cytochrome *c* oxydase en présence de dioxygène

I. Étude des complexes de fer et de fer/cuivre par UV-Visible	104
I.1. Les porphyrines de fer(II)	104
I.2. Cas du complexe de fer	105
I.2.1. Dispositif expérimental et conditions opératoires	105
I.2.2. Caractérisation du complexe $[54Fe^{II}]$	106
I.2.3. Réactivité avec O_2 et CO	107
I.3. Mise en évidence de la formation d'un complexe de fer/cuivre	108
II. Caractérisation par RMN 1H	109
II.1. Les porphyrines de fer en RMN	109
II.2. Cas du complexe de fer	110
II.2.1. Caractérisation	110
II.2.2. Réactivité avec O_2 et CO	112
II.3. Cas du complexe de fer/cuivre	113
III. Utilisation de la spectroscopie vibrationnelle	115
III.1. Spectroscopie Raman	115
III.1.1. Application aux hémoprotéines	116
III.1.2. Étude du complexe fer/cuivre	117
III.2. Spectroscopie infrarouge	119
III.2.1. Spectres d'absorption infrarouge des porphyrines	120
III.2.2. Étude du modèle de cytochrome <i>c</i> oxydase $[54Fe^{II}]$	121
IV. Études électrochimiques	123
IV.1. À propos de l'électrochimie des porphyrines	123
IV.1.1. Les porphyrines bases libres	124
IV.1.2. Les métalloporphyrines	124
IV.2. Étude par voltampérométrie cyclique	125
IV.2.1. Cas du complexe $[54Fe^{III}]^+$	125
IV.2.2. Cas du complexe $[54Fe^{III}Cu^I]^{2+}$	127
IV.3. Étude par électrode rotative « disque-anneau »	129
IV.3.1. Dispositif expérimental	129
IV.3.2. Comportement des complexes $[54Fe^{III}]^+$ et $[54Fe^{III}Cu^I]^{2+}$ en électrocatalyse	130
V. Conclusion	133

Chapitre IV : réactivité des complexes de fer et de fer/cuivre du modèle de cytochrome *c* oxydase en présence de dioxygène

Dans le chapitre précédent, le complexe $[54\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ a été synthétisé et caractérisé par spectroscopie RPE. Son étude par UV-Visible et RPE, en présence de différents ligands exogènes, a mis en évidence la formation d'un complexe hexacoordiné de fer(III) bas spin. Cependant, l'intérêt majeur des analogues de cytochrome *c* oxydase réside dans leur capacité à réduire l'oxygène moléculaire en eau. Ainsi, pour valider notre nouveau modèle comme mime efficace de la cytochrome *c* oxydase, il est important d'étudier sa réactivité vis-à-vis de O_2 . Cette dernière partie sera donc consacrée à la caractérisation des espèces obtenues lorsque le composé $[54\text{Fe}^{\text{II}}]$ est mis en présence de O_2 et de CO avec ou sans cuivre(I). Différentes techniques ont ainsi été utilisées :

- la spectrophotométrie UV-Visible qui permet d'accéder à des informations sur la coordination du dioxygène
- l'analyse par RMN qui fournit des renseignements sur la géométrie et la structure du complexe
- les spectroscopies vibrationnelles Infra-Rouge (IR) et résonance Raman qui donnent des précisions sur l'état de spin du fer et la coordination du CO.
- l'électrochimie qui permet de connaître les propriétés redox de notre modèle.

I. Étude des complexes de fer et de fer/cuivre par UV-Visible

Dans un premier temps, la coordination de O_2 et de CO sur le complexe $[54\text{Fe}^{\text{II}}]$ a été étudiée par spectrophotométrie UV-Visible. Cette même technique a ensuite permis de suivre l'insertion de cuivre(I) pour former le composé $[54\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cu}^{\text{I}}]^+$.

1.1. Les porphyrines de fer(II)

Le fer(II) comporte six électrons sur sa couche externe d. Comme pour le fer(III), sa configuration électronique dépend de la nature des ligands qui lui sont associés et du nombre de coordinants axiaux. Les porphyrines de fer(II) peuvent ainsi être paramagnétiques ou diamagnétiques. Les trois états de spin rencontrés sont représentés sur la **Figure 98**.

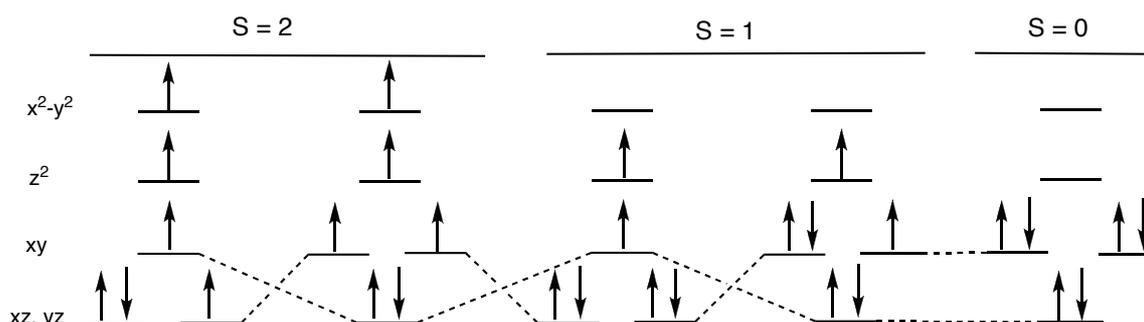


Figure 98 : états de spin d'une porphyrine de fer(II).

Dans un premier temps, la spectroscopie UV-Visible est une méthode de choix pour l'étude et la caractérisation de ferroporphyrines en présence de dioxygène ou de monoxyde de carbone. Ainsi les porphyrines de fer(II) tetracoordiné de spin $S = 1$ présentent une double bande de Soret vers 420 et 440 nm. La coordination d'un ligand axial à champ faible entraîne l'apparition d'un complexe pentacoordiné de spin $S = 2$ présentant une bande de Soret vers 440 nm. Lorsqu'un second ligand axial vient se fixer pour former un complexe hexacoordiné ($S = 0$), un déplacement de la bande de Soret vers 420 nm est observé.¹¹⁴

I.2. Cas du complexe de fer

I.2.1. Dispositif expérimental et conditions opératoires

Le composé $[\mathbf{54Fe}^{\text{III}}]^+$ est un complexe de fer(III) inactif vis-à-vis du dioxygène. Il faut générer le complexe de fer(II) $[\mathbf{54Fe}^{\text{II}}]$, au moyen d'un dispositif qui évite toute interaction avec O_2 . Pour cela, une cellule spécialement aménagée permettant de travailler sous atmosphère inerte a été utilisée (Figure 99).

¹¹⁴ Ruzié, C. *Thèse Université Rennes I 2005*.

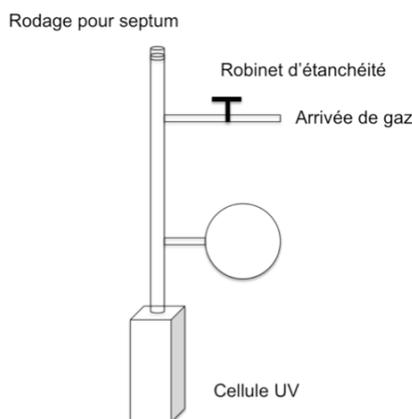


Figure 99 : cellule UV-Visible de type Schlenk.

La réduction du complexe de fer(III) $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ en complexe de fer(II) $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{II}}]$, a été réalisée sous atmosphère d'argon et en milieu biphasique dichlorométhane/eau. Deux solutions distinctes ont été préparées. La première contient le composé $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ dans du dichlorométhane qui est introduite dans la cellule UV-Visible de type Schlenk. La seconde est une solution saturée d'hydrosulfite de sodium (ou dithionite de sodium) utilisé comme réducteur. Ces deux solutions sont ensuite refroidies à $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ (mélange acétone/carboglace), puis dégazées par trois cycles successifs de vide et d'argon pour enlever toute trace d'oxygène (freeze pump). Une fois revenue à température ambiante, la solution aqueuse est transférée par canule sous argon dans la cellule UV-Visible, et les deux phases sont vigoureusement agitées. Après décantation, les mesures UV-Visible à température ambiante sont réalisées.

1.2.2. Caractérisation du complexe $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{II}}]$

Les spectres d'absorption de $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ et de $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{II}}]$ sont représentés sur la **Figure 100**. La courbe noire correspond à la solution du complexe $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ dans le dichlorométhane, avec une bande de Soret à 428 nm et une bande Q à 512 nm. Après ajout d'une solution saturée d'hydrosulfite de sodium, la courbe rouge est obtenue. La bande de Soret est observée à 428 nm et la bande Q subit un déplacement bathochrome de 512 à 537 nm. Cette évolution traduit la formation du complexe de fer(II) $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{II}}]$. Cependant, la présence des épaulements à 410 nm et 445 nm laissent supposer la présence de plusieurs espèces en solution pouvant correspondre au mélange d'atropoisomères de $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{II}}]$, à l'oxygénation partielle de $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{II}}]$ ou encore à une espèce hexacoordinée par coordination intramoléculaire du bras pyridinique distal sur $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{II}}]$.

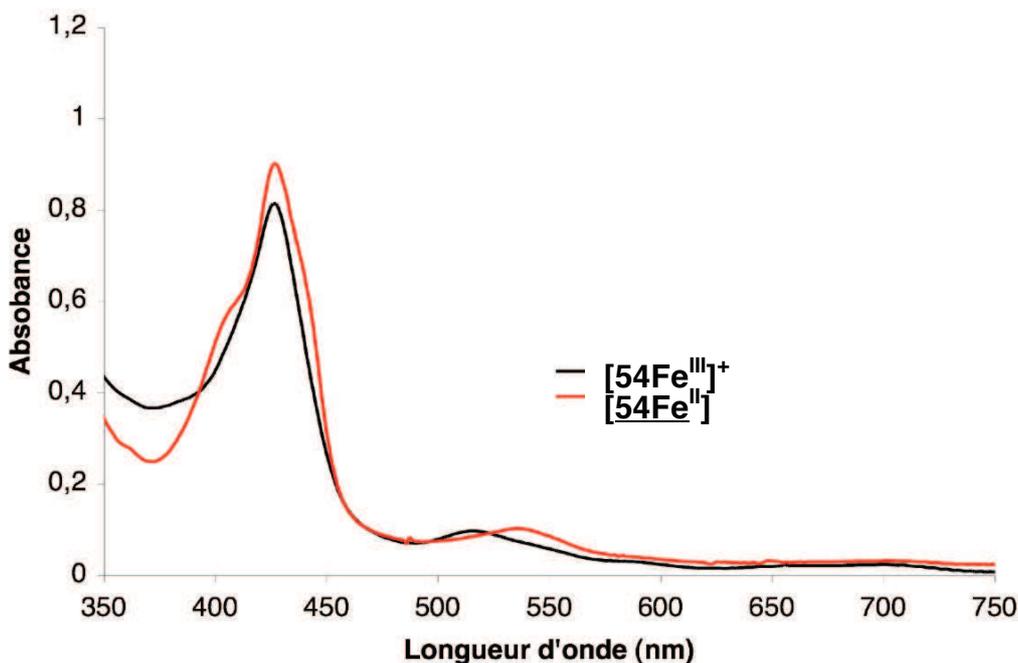


Figure 100 : spectres UV-Visible de $[54\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ et de $[54\text{Fe}^{\text{II}}]$ dans le dichlorométhane.

I.2.3. Réactivité avec O_2 et CO

La solution de $[54\text{Fe}^{\text{II}}]$ a ensuite été mise en présence de dioxygène et de monoxyde de carbone. Les spectres obtenus sont représentés sur la **Figure 101**. Après l'introduction de O_2 par courant gazeux (bullage), la courbe bleue est enregistrée. Un affaissement, un affinement et un léger déplacement hypsochrome ($428 \rightarrow 424 \text{ nm}$) est observé pour la bande de Soret, alors qu'aucun changement significatif n'est constaté pour la bande Q. L'épaulement à 410 nm est beaucoup plus prononcé et semble caractéristique de l'oxygénation du composé $[54\text{Fe}^{\text{II}}]$. Ainsi, malgré les précautions employées pour réduire le fer(III) en fer(II) du composé $[54\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ sous atmosphère inerte, une quantité infime de dioxygène suffit à ce que $[54\text{Fe}^{\text{II}}]$ adopte une géométrie hexacoordinée. Pour éviter toute trace possible de dioxygène, il faudrait réaliser cette réduction dans une boîte à gants et comparer le spectre ainsi obtenu avec la courbe rouge.

Afin de vérifier que le site de coordination du fer(II) ne s'est pas dégradé pour une raison inconnue, du monoxyde de carbone est ensuite barboté dans la solution qui se colore en rouge. Le choix du CO s'explique par sa forte affinité avec les ferroporphyrines. La courbe verte est alors enregistrée et montre une augmentation de la densité optique de la bande de Soret avec un déplacement hypsochrome de 4 nm . Ces modifications sont caractéristiques de la coordination du monoxyde de carbone sur le fer(II).

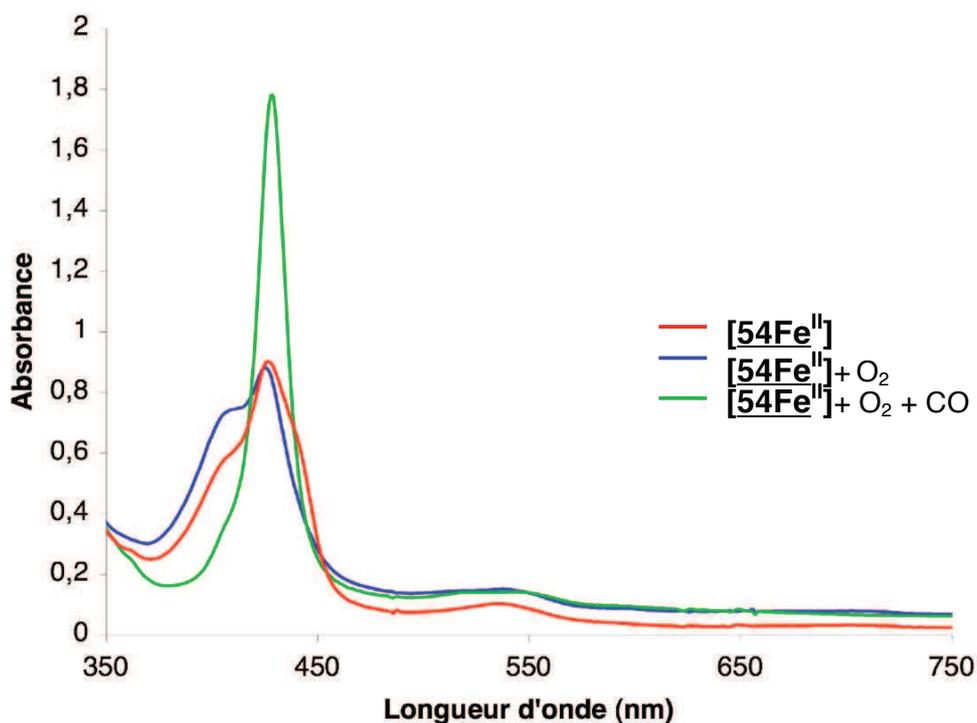


Figure 101 : étude de la fixation du dioxygène sur le complexe $[54\text{Fe}^{\text{II}}]$.

I.3. Mise en évidence de la formation d'un complexe de fer/cuivre

L'insertion de cuivre dans le composé $[54\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ permet de se rapprocher de la structure du site actif de la cytochrome *c* oxydase. Pour cela, la porphyrine $[54\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ en solution dans le dichlorométhane est dosée par une solution désoxygénée de $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4]^+[\text{PF}_6]^-$ dans l'acétonitrile. Afin de travailler sous atmosphère inerte, la même cellule de type Schlenk que précédemment a été utilisée. Le dosage est suivi par spectrophotométrie UV-Visible et les spectres obtenus sont représentés sur la **Figure 102**.

L'addition de la solution de cuivre(I) dans la solution du complexe $[54\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ jusqu'à un équivalent entraîne la disparition des bandes d'absorption de l'espèce initiale (bande de Soret à 428 nm et bande Q à 512 nm) au profit de nouvelles bandes (bande de Soret 421 nm et bande Q 531 nm). Cette transformation s'accompagne de l'apparition d'un point isobestique à 527 nm confirmant la formation d'un seul composé, le complexe binucléaire $[54\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{I}}]^{2+}$. Plus aucun changement n'est observable après un équivalent de cuivre(I).

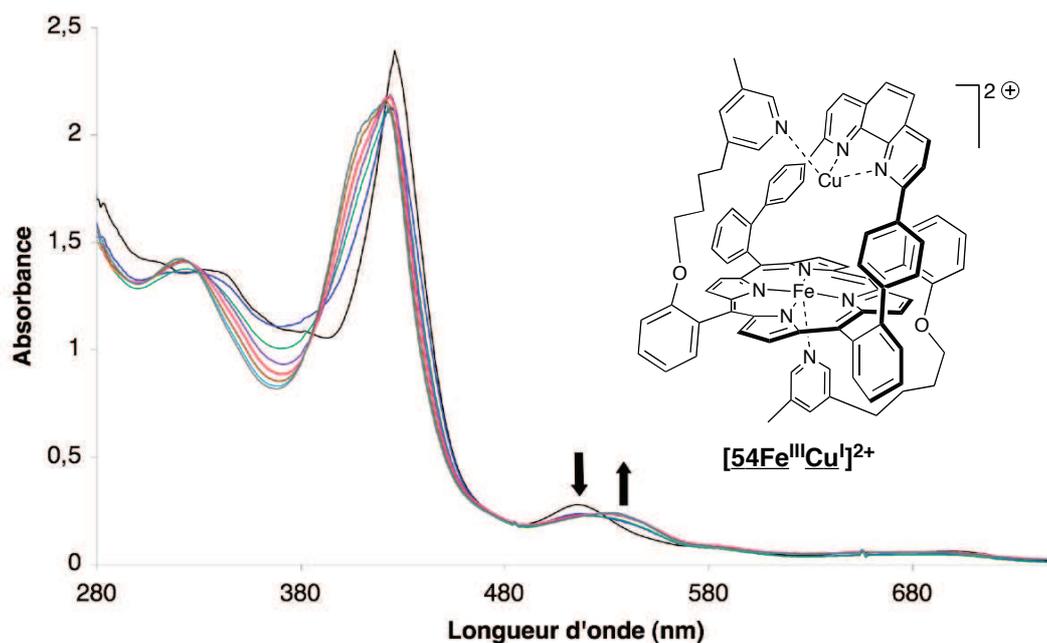


Figure 102 : spectre UV-Visible de la formation du complexe $[54\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{I}}]^2+$ pour des ajouts de 0 à 1 équivalent.

II. Caractérisation par RMN ^1H

Les spectres RMN ^1H des complexes de porphyrines de fer(III) ou (II) possèdent des caractéristiques similaires au sein d'une même classe (haut spin, bas spin ou spin intermédiaire), mais sont nettement différenciés d'une classe à l'autre. Ce type de spectroscopie est ainsi un bon outil pour la détermination de la nature du ou des ligand(s) axial(aux), l'état de spin du fer et sa géométrie de coordination.

II.1. Les porphyrines de fer en RMN

La métallation des porphyrines avec du fer conduit de manière générale à la formation d'un complexe de fer(III). Les porphyrines de fer(III) pentacoordiné haut spin sont paramagnétiques. Leurs spectres RMN ^1H présentent de larges signaux et sont caractérisés par un signal fortement déblindé des protons β pyrroliques vers 80 ppm.¹¹⁵

Les porphyrines de fer(II) tétracoordiné, donc sans ligand axial, présentent un état de spin intermédiaire $S = 1$.¹¹⁶ L'ajout d'un dérivé d'imidazole ou de pyridine fournit un composé de

¹¹⁵ Behere, D. V.; Birdy, R.; Mitra, S. *Inorg. Chem.* **1982**, *21*, 386.

¹¹⁶ Boyd, P. D. W.; Buckingham, D. A.; McMeeking, R. F.; Mitra, S. *Inorg. Chem.* **1979**, *18*, 3585.

fer(II) paramagnétique haut spin $S = 2$. Ces complexes sont d'un grand intérêt, puisqu'ils sont des modèles directs des protéines responsables du transport et du stockage du dioxygène. En effet, le fer(II) haut spin est la forme utilisée par l'hémoglobine et la myoglobine pour la fixation réversible de O_2 . En RMN du proton, les spectres de porphyrines de fer(II) pentacoordiné haut spin présentent une signature typique des protons β pyrroliques vers 40 ppm.¹¹⁷

Le fer(II) bas spin $S = 0$ est rencontré dans les porphyrines de fer(II) hexacoordiné. Il peut résulter de l'ajout d'un ligand à champ faible (O_2 , CO, dérivés d'imidazole) sur un complexe de fer(II) pentacoordiné. Les espèces formées sont alors diamagnétiques et les spectres en RMN 1H sont des spectres classiques compris entre 0 et 12 ppm.¹¹⁸

II.2. Cas du complexe de fer

Les spectres RMN 1H (300 MHz) réalisés dans les différents états rédox du complexes de fer du composé $[54Fe^{III}]^+$ ont été enregistrés dans le chloroforme deutéré à température ambiante.

II.2.1. Caractérisation

Le spectre RMN proton du composé $[54Fe^{III}]^+$ est représenté sur la **Figure 103**. Sur ce spectre, les signaux des protons de $[54Fe^{III}]^+$ sont larges et la présence d'un signal typique vers 80 ppm peut être attribuée aux protons β pyrroliques. Il est bel et bien caractéristique d'une espèce fer(III) pentacoordiné haut spin, déjà caractérisée par RPE dans le chapitre précédent.

La réduction du fer(III) en fer(II) est réalisée *in situ*. Le tube RMN contenant $[54Fe^{III}]^+$ dans le chloroforme deutéré est dégazé puis placé dans un Schlenk conditionné sous argon. Parallèlement, une solution saturée de dithionite de sodium dans D_2O est refroidie à $-78\text{ }^\circ C$ (mélange acétone/carboglace), puis dégazée par trois cycles successifs de vide et d'argon pour enlever toute trace d'oxygène. Une fois revenue à température ambiante, la solution aqueuse est canulée dans le tube RMN contenant $[54Fe^{III}]^+$. Les deux phases sont alors vigoureusement agitées et la phase organique plus dense est transférée dans un second tube RMN.

¹¹⁷ Goff, H.; La Mar, G. N. *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 6599.

¹¹⁸ Walker, A. F. *Handbook of Porphyrin Science* **2010**, *6*, 84, World Scientific.

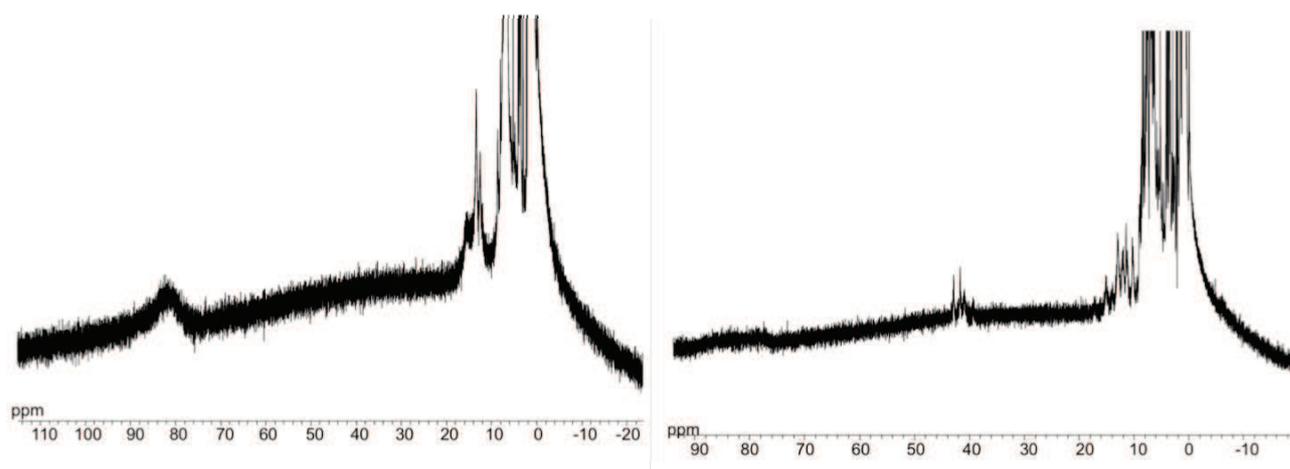


Figure 103 : spectres RMN ^1H (300 MHz) de $[\mathbf{54Fe}^{\text{III}}]^+$ (gauche) et de $[\mathbf{54Fe}^{\text{II}}]$ (droite) dans le CDCl_3 .

Le spectre RMN proton obtenu pour le composé $[\mathbf{54Fe}^{\text{II}}]$ est également représenté sur la Figure 103. Le signal large des protons β pyrroliques vers 80 ppm a disparu, pour laisser place à un signal vers 40 ppm, caractéristique d'une porphyrine fer(II) pentacoordiné haut spin et paramagnétique. Dans le cas des modèles mis au point par le Dr M. Lo, la réduction du fer(III) en fer(II) entraînait l'apparition d'une espèce à géométrie hexacoordinée. En effet, le spectre RMN ^1H obtenu après réduction du fer était celui d'un composé parfaitement diamagnétique, révélateur d'une porphyrine de fer(II) hexacoordiné bas spin ($S = 0$). Cette géométrie particulière autour du fer(II) peut s'expliquer par la coordination du bras pyridinique distal sur le métal central (Figure 104).

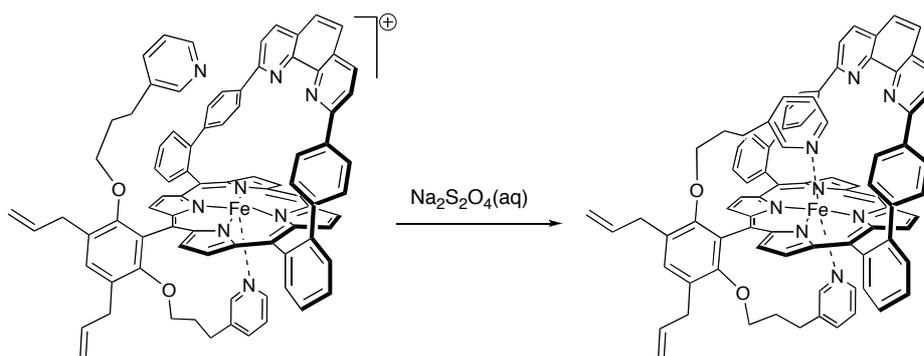


Figure 104 : réduction du fer(III) en fer(II) du complexe du Dr M. Lo.

Dans le cas de notre ligand, le complexe $[\mathbf{54Fe}^{\text{II}}]$ possède un ligand pendant plus encombré. Ainsi, l'introduction d'un méthyle en position 3 de la pyridine créée à proximité du site distal, la gêne stérique escomptée et évite ainsi l'obtention d'un complexe de fer(II) hexacoordiné après la réduction du fer(III).

II.2.2. Réactivité avec O₂ et CO

Le complexe [**54Fe^{II}**] a ensuite été étudié en RMN ¹H en présence de dioxygène. À cette fin, la solution de [**54Fe^{II}**] dans le chloroforme deutéré est soumise à un barbotage avec O₂. Le spectre RMN ¹H obtenu est représenté sur la **Figure 105** ci-dessous.

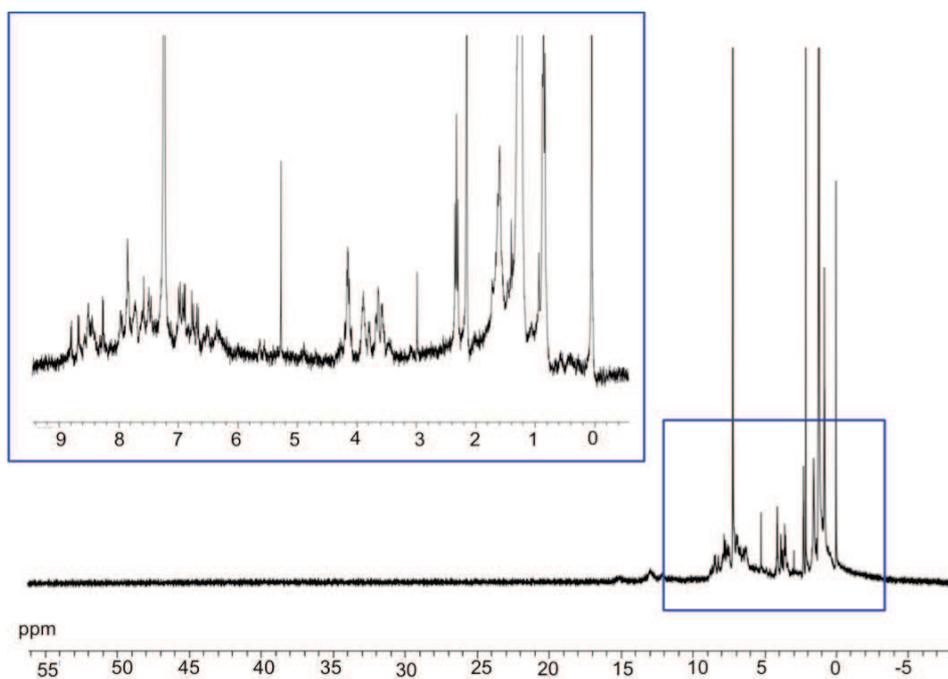


Figure 105 : spectre RMN ¹H (300 MHz) de [**54Fe^{II}**] dans le CDCl₃ sous atmosphère de O₂.

Le signal large des protons β pyrroliques vers 40 ppm, spécifique d'une porphyrine fer(II) pentacoordiné paramagnétique a disparu. De plus, ce spectre est relativement bien résolu et traduit la formation d'un composé parfaitement diamagnétique.

Enfin, l'étude en RMN ¹H du complexe [**54Fe^{II}**] a été réalisée en présence de monoxyde de carbone. L'échantillon a été dégazé par bullage de CO, et le spectre obtenu est représenté sur la **Figure 106** ci-dessous. Comme dans le cas de O₂, ce spectre est relativement bien résolu et typique d'une espèce fer(II) hexacoordiné. Cependant, l'attribution complète de tous les protons n'a pas été possible.

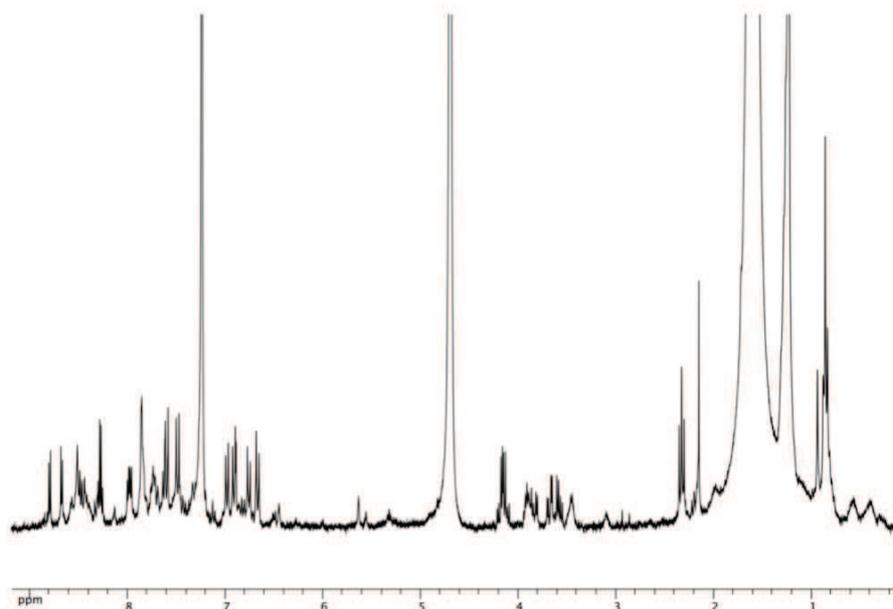


Figure 106 : spectre RMN ^1H (300 MHz) de $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{II}}]$ dans le CDCl_3 sous atmosphère de CO.

Ces études par spectroscopie RMN ^1H ont permis de mettre en évidence les différents états d'oxydation et de spin du complexe de fer de notre nouveau modèle potentiel de cytochrome *c* oxydase. On retiendra plus particulièrement que la réduction de la porphyrine $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ génère un complexe de fer(II) pentacoordiné, contrairement à des précédents modèles exhibant une géométrie hexacoordinée autour du fer(II). De même, le complexe de fer(II) fixe l'oxygène moléculaire de manière réversible puisque l'oxygène peut y être remplacé par CO. Il est donc raisonnable de considérer être en présence d'une espèce diamagnétique $[\text{Fe}^{\text{III}}\text{O}_2^-]$.

II.3. Cas du complexe de fer/cuivre

Pour reproduire le plus fidèlement possible le site actif de la cytochrome *c* oxydase, environ un équivalent de cuivre(I) a été inséré dans le composé $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{III}}]^+$. Le complexe binucléaire $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{III}}\underline{\text{Cu}}^{\text{I}}]^{2+}$ a été préparé *in situ*, par transfert sous argon masse ajustée de $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4]^+[\text{PF}_6]^-$, en solution dans l'acétonitrile deutéré désoxygénée, dans le tube RMN contenant $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ dans le chloroforme deutéré. Le spectre RMN ^1H (300 MHz) enregistré est semblable à celui obtenu pour $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{III}}]^+$. Il est typique d'un complexe de fer(III) pentacoordiné haut spin, avec la présence du signal à 80 ppm des protons β pyrroliques.

Les conditions opératoires de la réduction du fer(III) en fer(II) de $[54\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{I}}]^{2+}$ sont identiques à celles utilisées précédemment. Contrairement au spectre RMN proton de $[54\text{Fe}^{\text{II}}]$ le spectre obtenu ne présente pas les signaux à 40 ppm des protons β pyrroliques et est relativement bien résolu. Il ne correspond pas à une espèce fer(II) pentacoordiné, mais à un complexe de fer(II) hexacoordiné diamagnétique. La comparaison avec le spectre enregistré après bullage de dioxygène dans le tube RMN montre qu'ils sont quasiment identiques. Comme pour les études UV-Visible réalisées sur la porphyrine $[54\text{Fe}^{\text{II}}]$ il semble l'oxygène résiduel n'a pas totalement été ôté lors des cycles de vide/argon, et que le composé obtenu après réduction de $[54\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{I}}]^{2+}$ soit déjà partiellement oxygéné. La présence de ces quelques traces de dioxygène est sans doute due aux conditions expérimentales. Pour isoler le complexe de fer(II) $[54\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cu}^{\text{I}}]^+$ il faudrait probablement réaliser la réduction du fer(III) dans une boîte à gants.

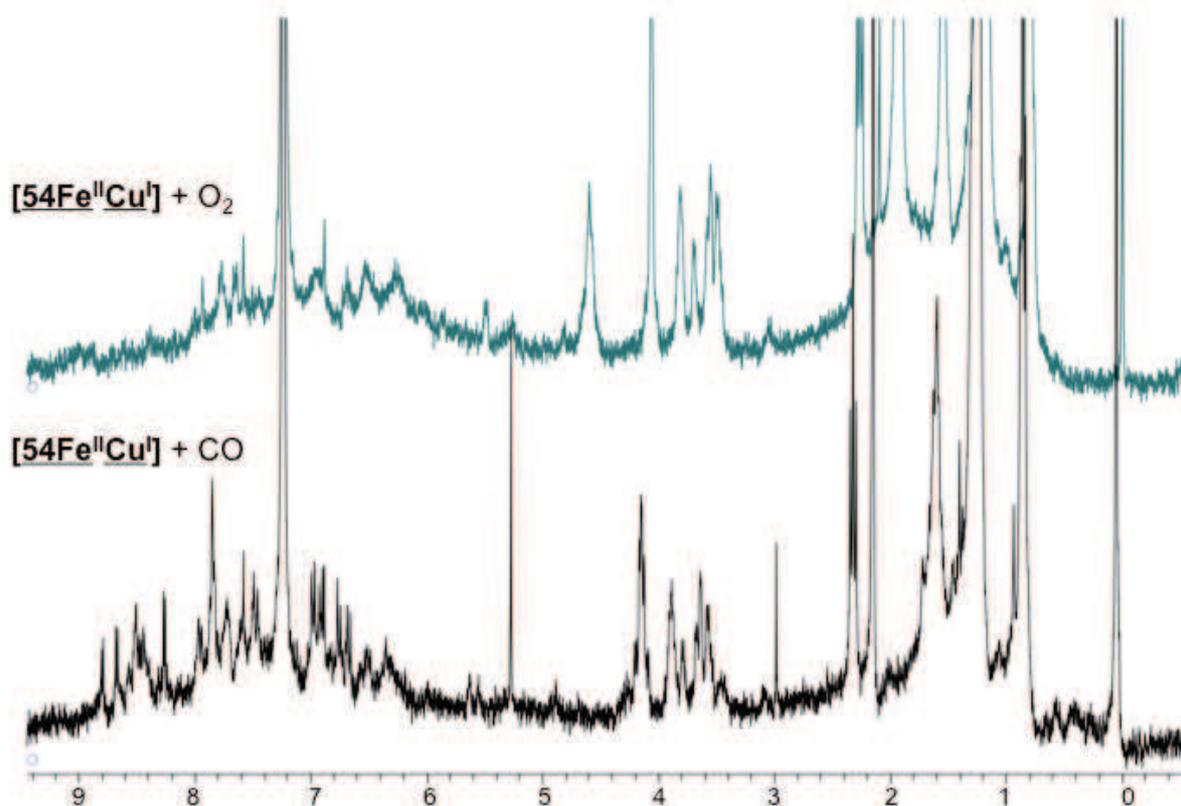


Figure 107 : spectre RMN ^1H (300 MHz) de $[54\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cu}^{\text{I}}]^+$ dans le CDCl_3 sous atmosphère de O_2 et de CO .

En présence de monoxyde de carbone, le spectre RMN ^1H du complexe de fer(II) $[54\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cu}^{\text{I}}]^+$ (Figure 107) est bien résolu et similaire à celui enregistré en présence de dioxygène.

III. Utilisation de la spectroscopie vibrationnelle

Les transitions vibrationnelles des molécules peuvent être observées sur des spectres infrarouge et de résonance Raman. La spectroscopie de résonance Raman réalisée sur les hémoprotéines fournit un grand nombre d'informations sur l'état de spin et rédox du métal central. C'est donc une technique de choix pour caractériser le complexe $[54\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cu}^{\text{I}}]^+$ qui n'avait pas pu être clairement isolé en RMN du proton. La spectroscopie infrarouge va quant à elle être utilisée pour étudier la fixation de CO sur le fer(II) dans les composés $[54\text{Fe}^{\text{II}}]$ et $[54\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cu}^{\text{I}}]^+$.

III.1. Spectroscopie Raman

La spectroscopie Raman, à l'instar de l'absorption infrarouge, est une technique permettant l'observation des états vibrationnels d'une molécule. Elle implique l'excitation par laser d'un échantillon, par envoi d'une lumière monochromatique¹¹⁹ (**Figure 108**). En spectroscopie Raman classique, l'échantillon est porté à un niveau énergétique virtuel dont les vibrations Raman sont de faible intensité. Par contre, lorsque la longueur d'onde excitatrice est proche de celle d'une transition électronique du composé étudié, l'état virtuel de l'échantillon devient un vrai état excité. Les vibrations Raman correspondantes sont alors fortement exaltées (jusqu'à 1000000).

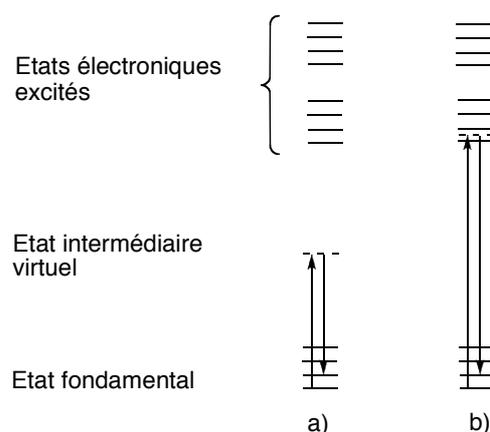


Figure 108 : transition électronique a) en spectroscopie Raman classique, b) en spectroscopie de résonance Raman.

¹¹⁹ Colin, N.; McCash, B.; McCash, E. M. *Fundamentals of molecular spectroscopy* 1994, Ed McGraw-Hill.

L'échantillon réémet ensuite une radiation qui est collectée puis analysée par un détecteur adéquat. Cette radiation comporte deux types de signaux (**Figure 109**).

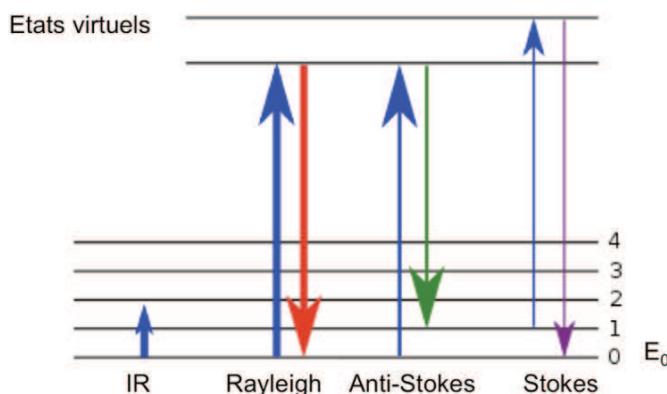


Figure 109 : diagramme d'énergie simplifié.

Le premier très majoritaire correspond à la diffusion Rayleigh ; la radiation incidente est diffusée élastiquement sans changement d'énergie donc de longueur d'onde. Toutefois, des photons dans un nombre très limité de cas peuvent interagir avec la matière. Celle-ci absorbe (ou cède) de l'énergie aux photons incidents produisant ainsi les radiations Stokes (ou anti-Stokes). La variation d'énergie observée sur le photon renseigne alors sur les niveaux énergétiques de rotation et de vibration de la molécule concernée.

III.1.1. Application aux hémoprotéines

Les spectres Raman des hémoprotéines fournissent une quantité importante d'informations. En effet, les porphyrines qui les constituent possèdent un grand nombre de fréquence de vibrations ($3N-6$ modes de vibrations où N = le nombre d'atomes), qui peuvent être classées et analysées en fonction de leur propriétés de symétrie. Certaines de ces fréquences de vibrations sont très sensibles et particulièrement dépendantes des changements de l'état de spin et de l'état d'oxydation de l'hème.¹²⁰ Leurs déplacements Raman peuvent donc être suivis de près.

Un spectre Raman de résonance d'hémoprotéine est généralement compris entre 750 et 1650 cm^{-1} , ce qui correspond à la région de vibration de l'anneau porphyrinique. Entre 1000 et 1650 cm^{-1} , les bandes d'élongation C-C et C-N de la porphyrine ainsi que la bande de

¹²⁰ Spiro, T. G. *Proc. R. Soc. Lond. A* **1975**, 345, 89.

déformation des protons méthènes sont observées. Les bandes d'élongations des doubles liaisons C=C apparaissent à des déplacements plus bas. Lorsque les positions *meso* sont substituées par des groupements qui ne sont pas conjugués à la porphyrine, aucune nouvelle bande n'est constatée sur le spectre. Par contre, lorsque les groupements interviennent dans la conjugaison, des bandes additionnelles sont distinguées.¹²¹

Dans le cas de l'hémoglobine, le passage du fer(III) pentacoordiné haut spin en fer(II) hexacoordiné bas spin entraîne le mouvement du fer dans le plan de la porphyrine, produisant en spectroscopie Raman des déplacements significatifs des fréquences de vibration. Ces modifications sur le spectre sont dues d'une part au changement du degré d'oxydation du fer et d'autre part au changement d'état de spin.¹²² La comparaison de spectres Raman d'hémoprotéines avec des analogues synthétiques, montre les mêmes évolutions.¹²³ Il s'avère donc, que la spectroscopie Raman est une technique de choix pour le suivi des différents états rédox et de spin de notre nouveau modèle de cytochrome *c* oxydase.

III.1.2. Étude du complexe fer/cuivre

Suite aux difficultés rencontrées en RMN ¹H pour caractériser le complexe de fer(II) **[⁵⁴Fe^{II}Cu^I]⁺**, la spectroscopie Raman a été utilisée. Les différents spectres obtenus pour le complexe **[⁵⁴Fe^{III}]⁺** (**Figure 110**) ont été réalisés en collaboration avec le Dr Frédéric Melin du Laboratoire de Spectroscopie Vibrationnelle et Electrochimie de Biomolécules, dirigé par le Pr Petra Hellwig à l'Institut de Chimie de Strasbourg. Ils ont été enregistrés à température ambiante après une exposition de 20 s à un laser de puissance de 20 mW, excitant l'échantillon à une longueur d'onde de 457 nm, correspondant à la région de la bande de Soret de la porphyrine.

La courbe noire de la **Figure 110** correspond au spectre du complexe **[⁵⁴Fe^{III}]⁺**. L'attribution des différents signaux est basée sur un travail précédent effectué sur une série de « picket-fence porphyrin » par Collman *et al.*¹²⁴ Les bandes les plus caractéristiques sont décrites dans le **Tableau 3** ci-dessous.

¹²¹ Spiro, T. G.; Strakas, T. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, *96*, 338.

¹²² Stein, P.; Burke, J. M.; Spiro, T. G. *J. Am. Chem. Soc.*, **1975**, *97*, 2304.

¹²³ Spiro, T. G.; Burke, J. M. *J. Am. Chem. Soc.*, **1976**, *98*, 5482.

¹²⁴ Burke, J. M.; Kincaid, J. R.; Peters, S.; Gagne, R. R.; Collman, J. P.; Spiro, T. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100*, 6083.

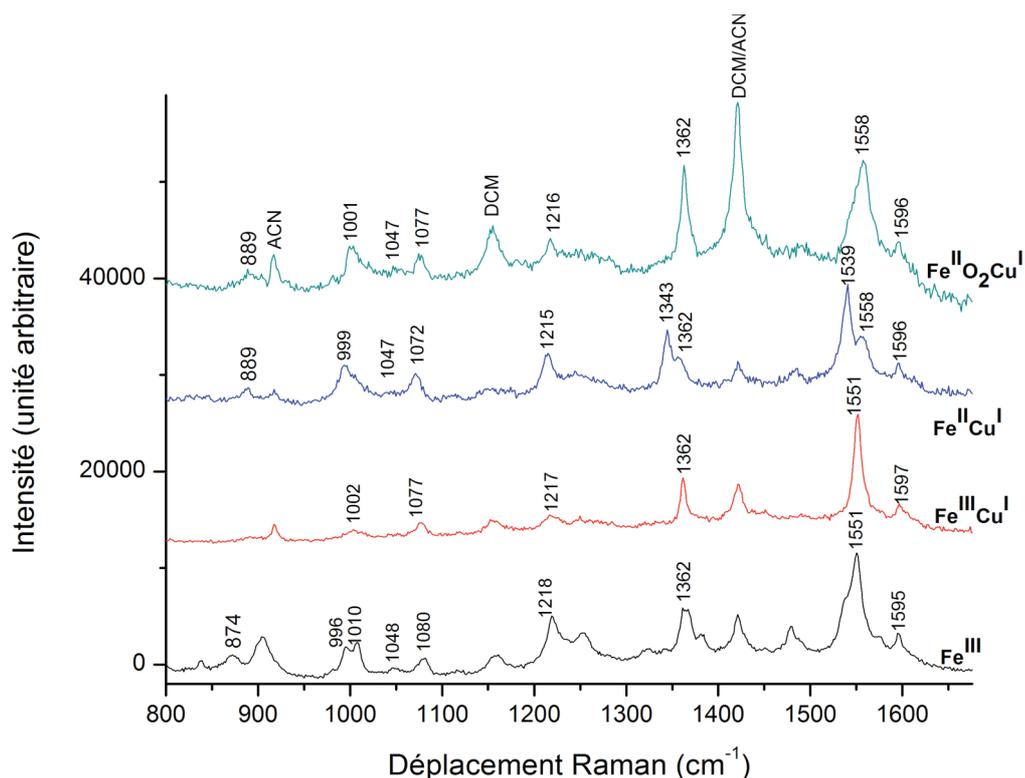


Figure 110 : spectres Raman de $[54\text{Fe}^{\text{III}}]^+$, $[54\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{I}}]^{2+}$, $[54\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cu}^{\text{I}}]^+$, et de $[54\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cu}^{\text{I}}]^+$ en présence de O_2 (ACN = acétonitrile et DCM = dichlorométhane).

Déplacement Raman (cm ⁻¹)	Mode de vibration
874	Phényle
996	Phényle
1048	Pyridine liée
1080	Déformation des liaisons C _β -C _β
1218	Phényle substitué en <i>ortho</i>
1362	« Respiration » des liaisons C-N des pyrroles
1551	Elongation des liaisons C-C de la porphyrine
1595	Phényle et pyridine liée

Tableau 3 : déplacements Raman (cm⁻¹) observés pour $[54\text{Fe}^{\text{III}}]^+$.

Pour les hèmes des systèmes naturels, différentes bandes dont les fréquences varient en fonction du degré d'oxydation et de la géométrie du fer ont été identifiées. Ce sont des bandes dépendantes de la structure de l'hème, dont deux sont présentes sur le spectre de $[54\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ à 1362 et 1551 cm⁻¹. Elles correspondent au mode de « respiration » des liaisons C-N des pyrroles et à l'élongation des liaisons C-C de la porphyrine et sont typiques d'un complexe de fer(III) haut spin.

Le complexe binucléaire $[54\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{I}}]^{2+}$ a été préparé *in situ*, par transfert sous argon d'une solution désoxygénée de $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4^+[\text{PF}_6]^-$ dans l'acétonitrile dans le Schlenk contenant la solution de $[54\text{Fe}^{\text{III}}]^+$. Le spectre Raman enregistré correspond à la courbe rouge. Il est similaire à celui de $[54\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ avec des légers déplacements de certaines bandes.

La réduction du complexe de fer(III) $[54\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{I}}]^{2+}$ en complexe de fer(II) $[54\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cu}^{\text{I}}]^+$, a ensuite été réalisée sous atmosphère d'argon, par ajout d'une solution dégazée saturée d'hydrosulfite de sodium. Les deux phases sont vigoureusement agitées, et après décantation, les mesures Raman sont réalisées. Par comparaison avec la courbe rouge correspondant à $[54\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{I}}]^{2+}$, les bandes de vibrations des phényles, des pyridines et la déformation des liaisons $\text{C}_\beta\text{-C}_\beta$ de la porphyrine varient peu. En revanche, les bandes dépendantes de la structure à 1362 et 1551 cm^{-1} sur le spectre de $[54\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{I}}]^{2+}$, sont déplacés à 1343 et 1539 cm^{-1} . Ces modifications sont caractéristiques de la formation d'un complexe de fer(II) haut spin $[54\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cu}^{\text{I}}]^+$. Cependant, la présence des signaux à 1362 et 1558 cm^{-1} suggèrent la présence d'un complexe hexacoordiné complexe $[54\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cu}^{\text{I}}]^+$ est déjà partiellement oxygéné et confirme la grande affinité de ce complexe pour l'oxygène comme déjà suggéré auparavant par les observations en UV-visible et en RMN ^1H .

Après l'introduction de O_2 par courant gazeux (bullage), la courbe bleu clair est enregistrée. Les bandes à 1362 et 1558 cm^{-1} sont plus intenses et sont typiques de l'oxygénation du composé $[54\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cu}^{\text{I}}]^+$. Malgré le dégazage des différentes solutions à -78 °C (mélange acétone/carboglace) par plusieurs cycles successifs de vide et d'argon, il suffit à nouveau d'une infime quantité de dioxygène pour que le complexe $[54\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cu}^{\text{I}}]^+$ adopte une géométrie hexacoordinée.

Enfin, la fixation de CO par les complexes $[54\text{Fe}^{\text{II}}]$ et $[54\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cu}^{\text{I}}]^+$ a été réalisée. Ces études ont été suivies par spectroscopie infrarouge et sont décrites dans la section suivante.

III.2. Spectroscopie infrarouge

La spectroscopie infrarouge est basée sur l'absorption d'un rayonnement infrarouge par le matériau analysé. Elle permet via la détection des vibrations caractéristiques des liaisons chimiques, d'effectuer l'analyse des fonctions chimiques présentes dans un matériau. C'est un procédé analytique largement utilisé, mais qui requiert des méthodes spécifiques de préparation

des échantillons à analyser. Cela entraîne souvent des problèmes de reproductibilité des spectres associés. La Réflexion Totale Atténuée (RTA), est une technique infrarouge qui utilise un cristal fortement réfracteur facilitant la transmission IR. Ce cristal est en contact direct avec l'échantillon et lorsqu'un faisceau IR le pénètre et se réfléchit au moins une fois à l'intérieur de ce cristal avant d'en sortir, on observe une réflexion interne totale. Ceci crée une onde évanescente à la surface du cristal, qui pénètre dans l'échantillon et donne naissance à spectre infrarouge. Cette méthode ne nécessite aucune préparation particulière de l'échantillon à traiter et permet une meilleure reproductibilité des spectres comparée à la spectroscopie IR classique.

III.2.1. Spectres d'absorption infrarouge des porphyrines

La spectroscopie infrarouge est une technique très utilisée pour l'analyse des métalloporphyrines et de leurs dérivés.¹²⁵ Un grand nombre de ces porphyrines synthétiques servent de modèles de sites actifs d'hémoprotéines. Ces complexes de fer hémiques peuvent être coordonnés par un ou deux ligands axiaux, dont les fréquences de vibration peuvent être suivies par spectroscopie infrarouge. Certains modes de vibration observés sont spécifiques à l'anneau porphyrinique. Ils donnent des informations sur l'état de spin et rédox du métal central¹²⁶ ainsi que sur sa coordination par des ligands axiaux.¹²⁷

Les études par spectroscopie infrarouge sur la fixation de monoxyde de carbone par les hémoprotéines ont mis en évidence une forte absorption vers 1950 cm^{-1} due à l'élongation de la liaison C-O.¹²⁸ Dans le cas des métalloporphyrines non protégées, le ν_{CO} a tendance à augmenter pour atteindre 1980 cm^{-1} . Cette différence de fréquence est en partie due à la distorsion de la liaison Fe-CO dans les hèmes physiologiques. La matrice protéique autour du site de fixation crée de la gêne stérique forçant ainsi la liaison Fe-CO à s'incliner ou se pencher. Pour les simples métalloporphyrines, l'absence d'acides aminés encombrants permet la géométrie linéaire de Fe-CO.¹²⁹ Des interactions secondaires entre la molécule de CO et l'environnement protéique autour de la poche de fixation de la porphyrine, sont également responsables de cette différence

¹²⁵ Hellwig, P.; Melin, F. *Handbook of Porphyrin Science* **2010**, 7, 437, World Scientific.

¹²⁶ Kozlowski, P. M.; Spiro, T. G. *J. Phys. Chem. B* **1998**, 102, 2603.

¹²⁷ Lim, M.; Jackson, T. A.; Anfinrud, P. A. *Science* **1995**, 269, 925.

¹²⁸ a) Barlow, C. H.; Ohlsson, P.-I.; Paul, K.-G. *Biochemistry* **1976**, 15, 2225, b) Yoshikawa, S.; Choc, M. G.; O'Toole, M. C.; Caughey, W. S. *J. Biol. Chem* **1977**, 252, 5498.

¹²⁹ Collman, J. P.; Brauman, J. I.; Halbert, T. R.; Suslick, K. S. *Proc. Nat. Acad. Sci* **1976**, 73, 3333.

de fréquence. À travers différentes études sur des porphyrines synthétiques, il a été montré que des interactions électrostatiques entre le CO et des résidus voisins (anse, ligand axial, groupements périphériques...), modifient la fréquence d'élongation ν_{CO} .

De manière générale, tout facteur modifiant la densité électronique du fer d'hèmes synthétiques ou naturels, affecte la fréquence d'élongation de CO.¹³⁰ En effet, la force de la liaison Fe-C dépend de la rétrodonation des orbitales du métal vers les orbitales π^* du CO. Les ligands axiaux du fer électrodonneurs vont renforcer la liaison Fe-C ce qui aura pour conséquences de diminuer l'ordre de liaison de C-O et donc la fréquence d'élongation ν_{CO} .

III.2.2. Étude du modèle de cytochrome *c* oxydase [$54Fe^{II}$]

En présence de monoxyde de carbone, le complexe [$54Fe^{II}$] fournit le spectre infrarouge représenté sur la **Figure 111** ci-dessous.

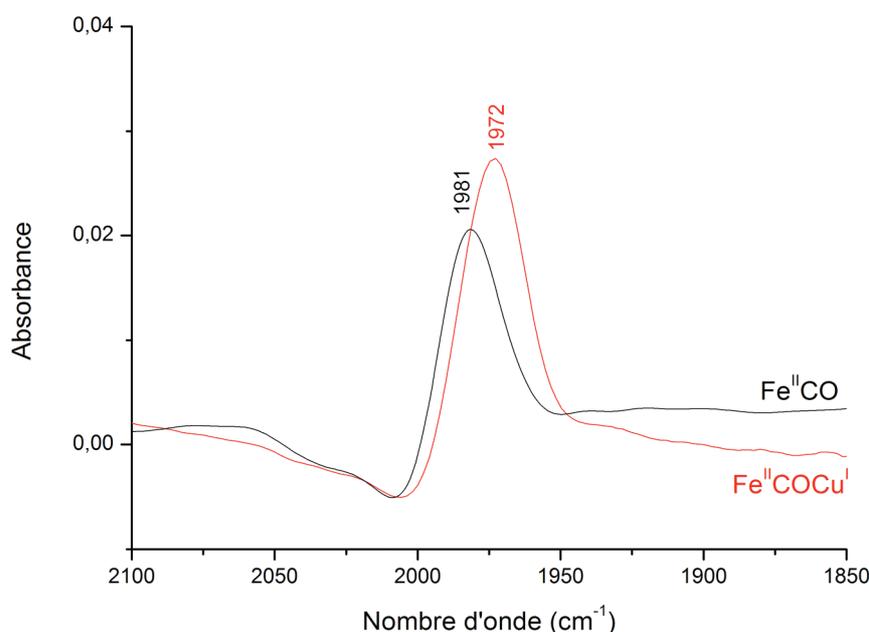


Figure 111 : spectres infrarouge des complexes [$54Fe^{II}$] et [$54Fe^{II}Cu^I$]⁺ en présence de CO.

En l'absence de cuivre, la fréquence d'élongation C-O est de 1981 cm^{-1} . Cette valeur est typique d'une porphyrine de fer(II) ayant fixé du CO et possédant une pyridine comme base axiale. Lorsque le cuivre est inséré dans l'anse phénanthroline, la courbe rouge est obtenue. Une

¹³⁰ a) Alben, J. O.; Caughey, W.S. *Biochemistry* **1968**, 7, 175, b) Silvernail, N. J.; Roth, R.; Schulz, C. E.; Noll, B. C.; Scheidt, W. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 14422.

seule bande d'élongation, un peu élargie par rapport à celle du fer seul et déplacée à 1972 cm^{-1} est observée. L'absence de toute autre bande au-delà de 1972 cm^{-1} indique que le monoxyde de carbone est lié au fer et non cuivre.¹³¹ De même, la présence de la charge positive du cuivre(I) à proximité de l'atome d'oxygène du CO va affaiblir l'énergie de la liaison C-O. La fréquence d'élongation de CO diminue.

Ces spectres ont été comparés à ceux du modèle mis au point par le Dr M. Lo (**Figure 112**). Pour les complexes de fer(II) en présence de CO, les courbes noires sont obtenues. Elles sont identiques et présentent une forte absorption à 1980 cm^{-1} , caractéristique d'une porphyrine de fer(II) ayant fixé du CO et possédant une pyridine comme base axiale. Par contre, une fois le cuivre(I) inséré dans le site distal, ces deux composés se comportent très différemment. Contrairement au composé $[54\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cu}^{\text{I}}]^+$ dont la fréquence d'élongation C-O se situe à 1972 cm^{-1} , le spectre du complexe fer/cuivre du Dr M. Lo montre deux bandes d'absorption à 1977 et 1947 cm^{-1} .

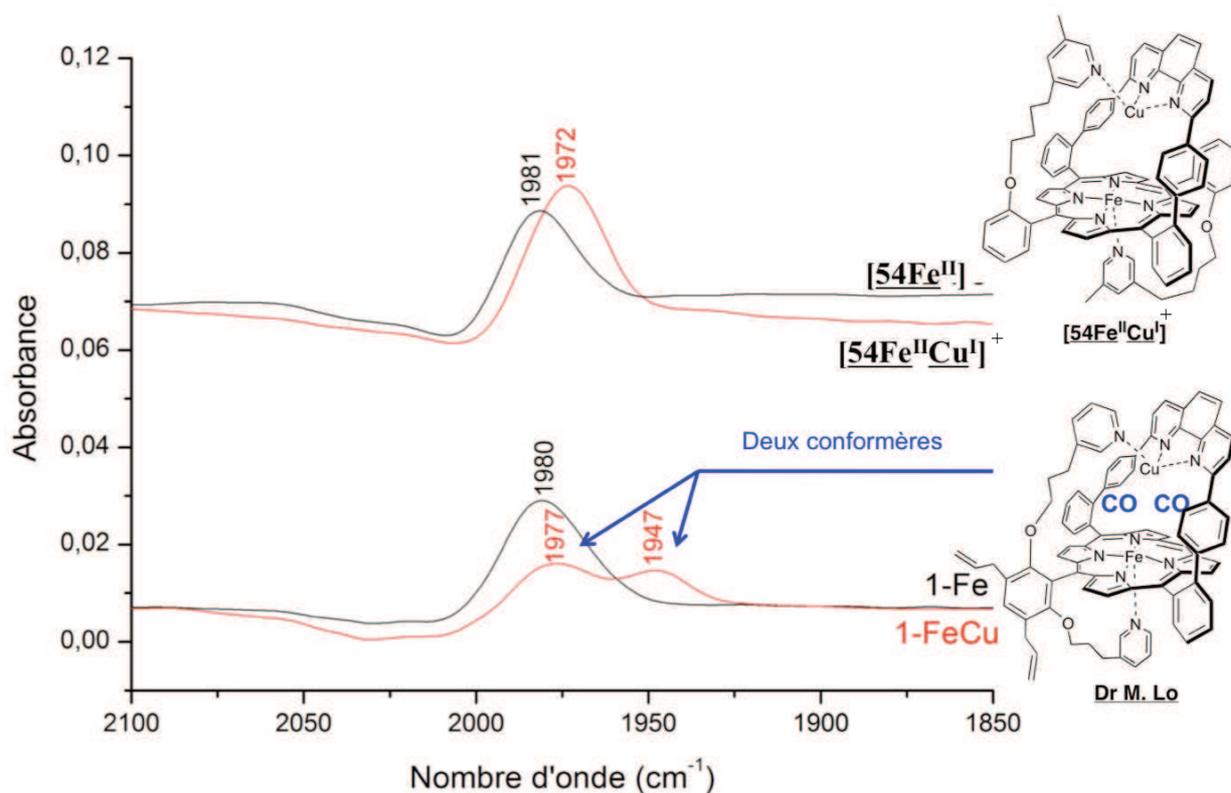


Figure 112 : comparaison des spectres infrarouge des complexes fer et fer/cuivre du Dr M. Lo avec $[54\text{Fe}^{\text{II}}]$ et $[54\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cu}^{\text{I}}]^+$ en présence de CO.

¹³¹ Collman, J. P.; Sunderland, C. J.; Boulatov, R. *Inorg. Chem.* **2002**, *41*, 2282.

Dans les deux cas, le déplacement significatif de la fréquence d'élongation montre qu'il existe une interaction non négligeable entre l'oxygène du CO et le cuivre présent dans l'anse phénantroline. L'interaction du cuivre(I) avec le monoxyde de carbone dans le modèle du Dr M. Lo fournit deux composés différents. Il se pourrait que des problèmes de tensions au niveau des bras pyridiniques pendants entraînent une légère inclinaison de l'anse phénanthroline. Le CO possède moins de degré de liberté et deux conformères relativement figés sont observés.

Dans le cas du complexe $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{II}}\underline{\text{Cu}}^{\text{I}}]^+$, les deux bras pyridiniques sont découplés. Le système plus souple et l'anse phénanthroline ne subit *a priori* aucune restriction de mouvement ni de contraintes particulières forçant par exemple son inclinaison. Le monoxyde de carbone n'est ainsi pas contraint d'adopter une orientation ou une autre et un seul conformère stable est observé, caractérisé par une bande large à 1972 cm^{-1} .

IV. Études électrochimiques

La réactivité des complexes $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ et $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{III}}\underline{\text{Cu}}^{\text{I}}]^{2+}$ a été étudié par électrochimie à la fois en solution par voltampérométrie cyclique et adsorbés sur une électrode rotative « disque-anneau ». Ces deux techniques permettent d'une part l'observation rapide du comportement redox des espèces sur une large gamme de potentiel, d'autre part la détermination de l'efficacité catalytique de notre modèle. L'ensemble de ces mesures électrochimiques a été réalisé en collaboration avec le Pr Corinne Boudon du laboratoire d'Electrochimie et Chimie Physique du Corps Solide à l'Institut de Chimie de Strasbourg.

IV.1. À propos de l'électrochimie des porphyrines

Un grand nombre d'enzyme met en jeu des transferts électroniques (photosynthèse, chaîne respiratoire...), dont le site actif est constitué d'une porphyrine. Pour mieux comprendre les mécanismes de ces processus biologiques, des études électrochimiques ont été effectuées sur des porphyrines synthétiques, modèles des systèmes naturels.^{73,132} Ces études ont permis d'établir des relations entre la structure et l'activité redox de ces macrocycles.

¹³² Collman, J. P.; Boulatov, R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 3487.

IV.1.1. Les porphyrines bases libres

L'oxydation des porphyrines bases libres en milieu non aqueux est effectuée en deux étapes monoélectroniques et réversibles. Deux radicaux successifs sont alors obtenus, un cation puis un dication. En réduction, les deux premières étapes sont monoélectroniques et réversibles. Elles conduisent au radical monoanion, puis dianion. Deux autres étapes de réduction se produisent à des potentiels très négatifs (-2 V et -3 V vs Fc^+/Fc). Ces échanges électroniques peuvent être monoélectroniques ou multiélectroniques en fonction du solvant.

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

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

IV.1.2. Les métalloporphyrines

Toutes les métalloporphyrines sont électroactives et sont capables de subir trois, ou plus, transferts électroniques en milieux non aqueux. Le nombre exact de transferts dépend de la gamme de potentiel redox, du solvant utilisé, du type de macrocycle et du métal et de ses ligands axiaux coordonnés.

Dans le cas des métalloporphyrines dont le métal central est dit inactif (Zn(II) , Mg(II) ...), l'oxydation et la réduction impliquent uniquement le macrocycle tétrapyrrolique. Le comportement de ces composés est alors analogue aux bases libres.

Pour les métalloporphyrines dont l'ion métallique est électroactif (Fe(III) , Co(II) , Mn(II) ...), les réductions ou les oxydations peuvent aussi bien intervenir sur le métal que sur le ligand. Avec le fer et le cobalt, plusieurs changements de degré d'oxydation du métal sont souvent observés. Ces étapes monoélectroniques et réversibles précèdent en général celles du ligand.

Plusieurs facteurs peuvent fortement influencer le comportement en électrochimie des métalloporphyrines, qui sont liés soit à la porphyrine elle-même, soit à son environnement :

- la nature des substituants en position β ou *meso* : les substituants électrodonneurs facilitent l'oxydation du macrocycle alors que la réduction est plus difficile. Des effets inverses sont observés avec des substituants électroattracteurs.

- la présence de coordinants axiaux sur le métal : leur nombre et leur caractère électro-donneur ou –accepteur influent fortement le potentiel redox.
- la nature du solvant : s’il est non coordinant, les potentiels redox sont déplacés, mais sans conséquence sur le mécanisme du transfert électronique à l’électrode.

IV.2. Étude par voltampérométrie cyclique

Les complexes $[\mathbf{54Fe}^{\text{III}}]^+$ et $[\mathbf{54Fe}^{\text{III}}\mathbf{Cu}^{\text{I}}]^{2+}$ ont été conçus comme mimes d’enzyme naturelle à activité redox. Il est donc indispensable de déterminer leurs propriétés électrochimiques. Leur comportement a été analysé en solution dans le dichlorométhane à température ambiante, par voltampérométrie cyclique.

La cellule d’électrochimie utilisée est une cellule classique à trois électrodes. Une électrode de travail constituée d’un disque tournant en carbone vitreux, un fil de platine comme électrode auxiliaire et une électrode de référence en platine. Les solutions à analyser ($\sim 10^{-4}$ M) contiennent dans chaque cas le complexe $[\mathbf{54Fe}^{\text{III}}]^+$ ou $[\mathbf{54Fe}^{\text{III}}\mathbf{Cu}^{\text{I}}]^{2+}$, ainsi que de l’hexafluorophosphate de tétrabutylammonium à 0,1 M comme électrolyte support. Les potentiels sont indexés sur le couple redox ferricinium/ferrocène (Fc^+/Fc) utilisé comme référence interne. La vitesse de balayage est fixée à $0,1 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$.

Pour les deux complexes, la gamme de potentiel explorée ne correspond qu’à l’électroactivité du fer ou du fer et du cuivre. Les oxydations et réductions du macrocycle porphyrinique n’ont pas été étudiées. En effet, l’activité de nos modèles dépend uniquement de la réactivité du métal au centre de la porphyrine et de celui inséré dans l’anse phénanthroline.

IV.2.1. Cas du complexe $[\mathbf{54Fe}^{\text{III}}]^+$

Le voltampérogramme obtenu pour le complexe $[\mathbf{54Fe}^{\text{III}}]^+$ est représenté sur la **Figure 113** ci-dessous (courbe noire).

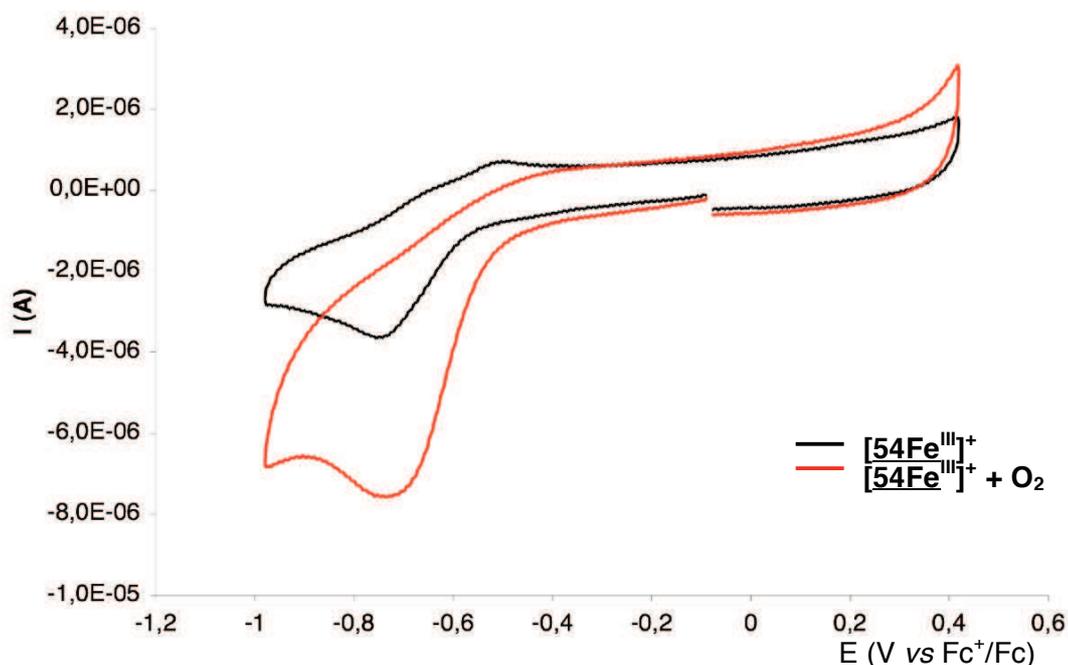


Figure 113 : voltampérométries cycliques du complexe $[54\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ dans le dichlorométhane (courbe noire) et en présence de O_2 (courbe rouge) ; référence interne Fc^+/Fc .

Le complexe $[54\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ présente une réduction à $-0,74$ V caractéristique de la réduction du fer(III) en fer(II). Pour cette étape de réduction, le pic anodique est moins bien résolu que le pic cathodique ($E_{\text{pc}} = -0,74$ V). Des effets analogues ont été observés par Kadish *et al*¹³³ avec la $[\text{Fe}^{\text{III}}\text{TPP}]$ et expliqués par une compétition entre le DMF et l'ion chlorure dans la sphère de coordination de la porphyrine de fer(II). Ainsi le manque de réversibilité du pic anodique pourrait s'expliquer par une interaction partielle entre un anion ou un solvant résiduel coordonnant (tel que H_2O) du milieu et la sphère de coordination du fer(II) après la réduction. Il a été vérifié dans plusieurs cas au laboratoire qu'en présence d'imidazole, fortement coordonné sur le site distal, le pic anodique devient réversible.

La solution de $[54\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ dans le dichlorométhane a ensuite été saturée en dioxygène par bullage dans le milieu et la courbe rouge (**Figure 113**) a été enregistrée. L'addition de O_2 dans la solution n'affecte pas le potentiel de réduction du fer(III). Le voltampérométrie obtenue n'est plus réversible et une augmentation de l'intensité du courant est également observée. Ces modifications montrent bien qu'une réaction entre la porphyrine de fer(II) et le dioxygène a lieu.

¹³³ Bottomley, L. A.; Kadish, K. M. *Inorg. Chem.* **1981**, *20*, 1348.

IV.2.2. Cas du complexe $[54\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{I}}]^{2+}$

Le complexe $[54\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{I}}]^{2+}$ a été obtenu *in situ*, par ajout d'un équivalent de $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4\text{PF}_6]$ à la solution de $[54\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ (dichlorométhane + 0,1 M $n\text{Bu}_4\text{NPF}_6$). Le voltampérogramme obtenu est représenté sur la **Figure 114** ci-dessous (courbe violette).

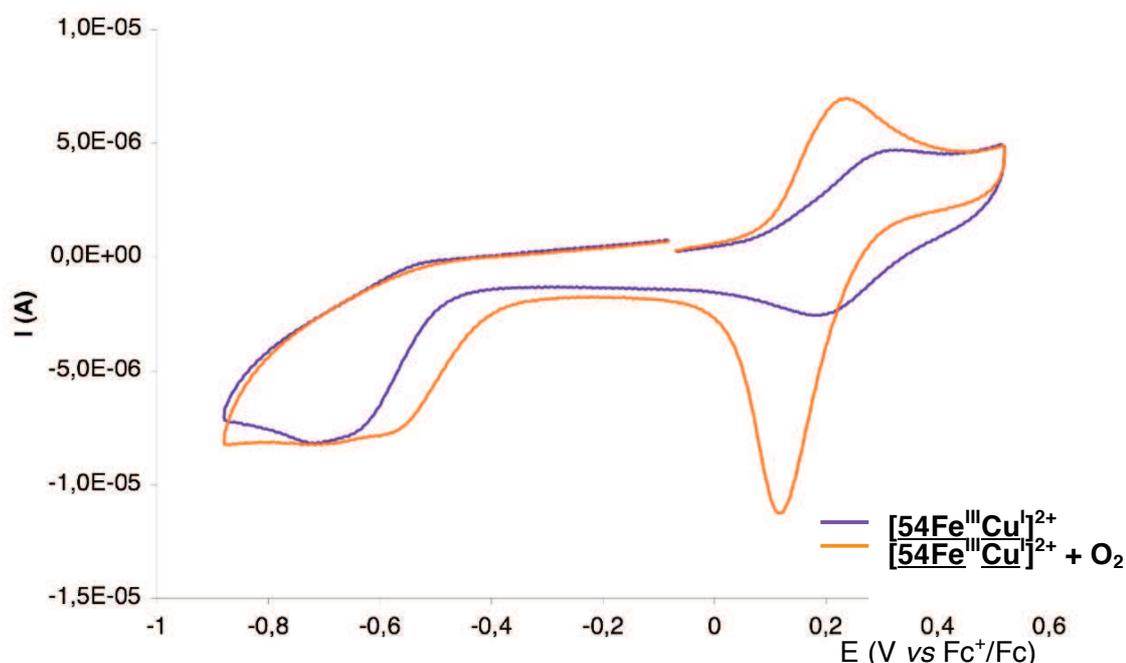


Figure 114 : voltampérogrammes cycliques du complexe $[54\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{I}}]^{2+}$ dans le dichlorométhane (courbe violette) et en présence de O_2 (courbe orange) ; référence interne Fc^+/Fc .

La formation *in situ* du complexe $[54\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{I}}]^{2+}$ fait apparaître un nouveau couple redox correspondant au cuivre(II)/cuivre(I). Le pic d'oxydation à 0,33 V est caractéristique de l'oxydation du cuivre(I) en cuivre(II). L'addition du cuivre(I) modifie le potentiel du fer(III), dont la réduction n'est plus réversible. En effet, l'approche sur la face distale d'un ligand venant compléter la sphère de coordination du fer(II) est gênée par la présence de cuivre(I) dans l'anse phénanthroline. De ce fait, la réduction du fer(III) en fer(II) n'est plus du tout réversible.

Le dégazage de la solution de $[54\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{I}}]^{2+}$ par du dioxygène fournit la courbe orange. L'intensité du courant pour le couple $\text{Cu}(\text{II})/\text{Cu}(\text{I})$ augmente et le pic anodique est déplacé à $E_{\text{pa}} = 0,24$ V. De même, le pic de réduction du fer(III) est déplacé à -0,58 V. Ainsi, en présence de O_2 , le cuivre(I) s'oxyde plus facilement et le fer(III) se réduit plus facilement. Cette tendance peut s'expliquer par comparaison avec le modèle mis au point par le Dr M. Lo, également

caractérisé par voltampérométrie cyclique. Les voltampérogrammes obtenus sont représentés sur la **Figure 115** ci-dessous.

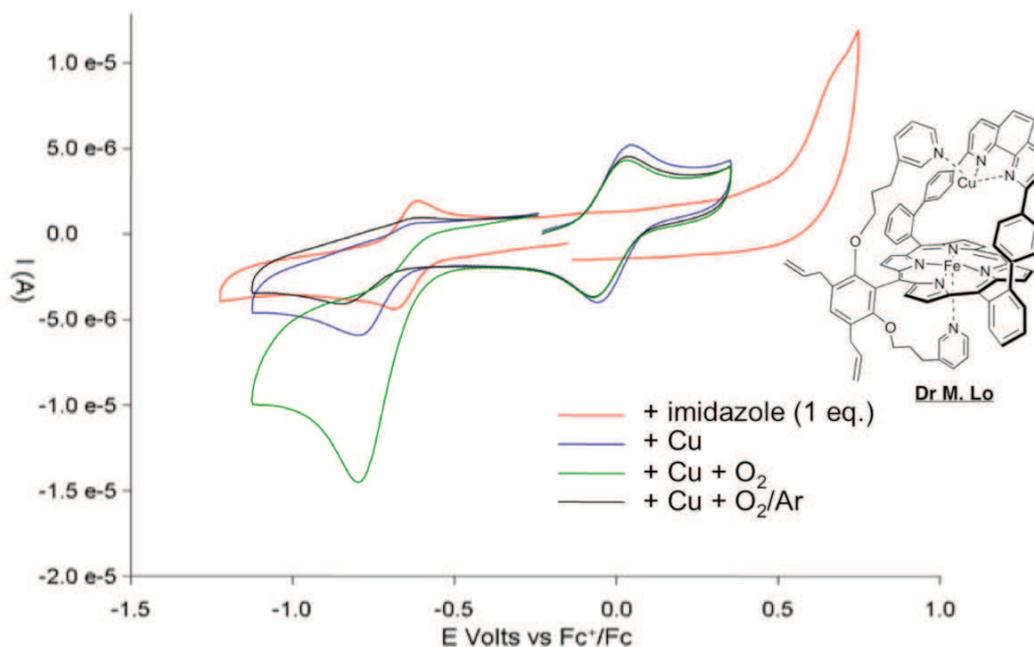


Figure 115 : voltampérogrammes cycliques du modèle du Dr M. Lo dans le dichlorométhane en présence d'imidazole (courbe orange), de $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4\text{PF}_6]$ (courbe violette), le complexe fer/cuivre résultant en présence de O_2 (courbe verte), suivi d'un dégazage (courbe noire) ; référence interne Fc^+/Fc .

L'oxygénation du complexe fer/cuivre synthétisé par le Dr M. Lo n'entraîne pas de variation du potentiel de réduction du fer(III), contrairement au composé $[\text{54Fe}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{I}}]^{2+}$. Dans le cas du complexe $[\text{54Fe}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{I}}]^{2+}$ la réduction du fer(III) est facilitée. Cette différence ne peut guère être expliquée que par un caractère oxophile de la cavité distale définie par le fer(III) et le cuivre(I). Suivant cette hypothèse, O_2 pourrait être localisé à proximité du fer(III) par interaction avec le cuivre de l'anse phénanthroline, appauvrir la densité électronique disponible sur le fer(III) et en faciliter la réduction.

De même, la saturation de la solution en O_2 contenant le composé du Dr M. Lo n'entraîne aucune variation de potentiel du pic d'oxydation du cuivre(I). Par contre, pour le complexe $[\text{54Fe}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{I}}]^{2+}$, le potentiel anodique est moins positif après saturation en dioxygène du contenu de la cellule. Cela suggère que la présence d'un ligand exogène dans la cavité distale peut influencer sur la sphère de coordination du cuivre(I), déstabilisant la géométrie tétraédrique du cuivre(I) et facilitant son oxydation. Ce changement est possible grâce à la flexibilité du bras pyridinique

distal, alors que dans le cas du modèle du Dr M. Lo, il a été établi que l'architecture du ligand se heurtait à des problèmes de tension dus à la rigidité des bras pyridiniques situés sur le même substituant *meso*. Ce manque de souplesse ne permet pas à l'environnement autour du cuivre d'adapter une autre géométrie et il ne change pas de potentiel.

IV.3. Étude par électrode rotative « disque-anneau »

IV.3.1. Dispositif expérimental

Le comportement électrochimique des complexes $[54\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ et $[54\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{I}}]^{2+}$ en présence d'oxygène a été étudié par électrocatalyse sur une électrode rotative « disque-anneau ». ¹⁸ Cette technique est très utilisée pour l'étude des modèles hème/cuivre. L'électrode sert à la fois de donneur d'électrons et de support de catalyseur. Elle est formée d'un disque en graphite entouré d'un anneau en platine qui sont séparés par du teflon (Figure 116).

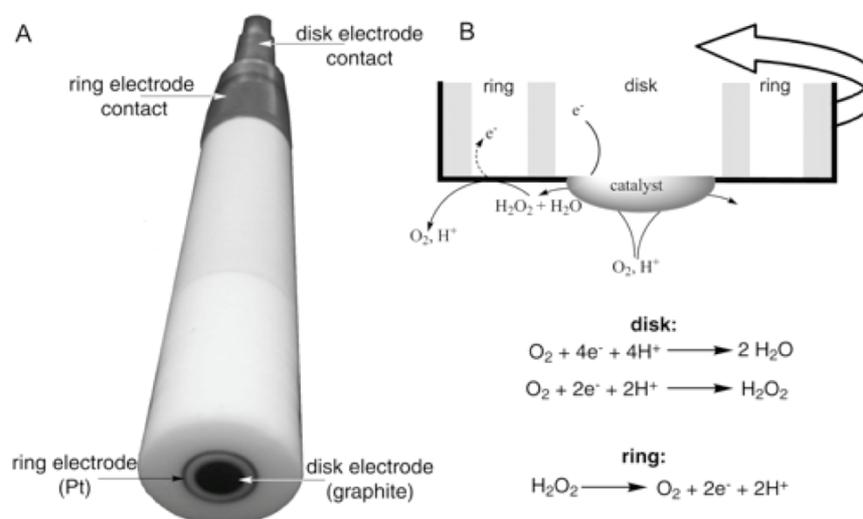


Figure 116 : schéma d'une électrode rotative « disque-anneau » (RDE) et de son fonctionnement. ¹⁸

Les catalyseurs insolubles dans l'eau sont adsorbés sur la surface du disque en graphite par évaporation d'une goutte de solution et l'ensemble est plongé dans une solution aqueuse tamponnée à pH physiologique et en général saturée en oxygène. La rotation de l'électrode génère un courant de la solution vers l'électrode, apportant ainsi le dioxygène à réduire au

catalyseur. La production d'espèces partiellement réduites du dioxygène (eau oxygénée en général) diffuse ensuite vers l'anneau, dont le potentiel est fixé de telle sorte qu'il puisse rapidement réoxyder ces espèces en dioxygène. L'efficacité d'un catalyseur est donc déterminée en fonction de la nature des composés partiellement réduits formés, c'est-à-dire par la mesure du courant à l'anneau.

IV.3.2. Comportement des complexes $[54\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ et $[54\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{I}}]^{2+}$ en électrocatalyse

Les complexes $[54\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ et $[54\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{I}}]^{2+}$ étudiés sont adsorbés en déposant environ 10 μL de solution de complexe à la surface du disque en graphite pyrrolitique. Il faut éviter de contaminer l'anneau en platine consacré à l'oxydation des peroxydes. L'électrode tournante est ensuite immergée dans un milieu aqueux tamponné à $\text{pH} = 7$ par un tampon phosphate et saturé en O_2 . Les potentiels sont indexés ici sur le potentiel de l'électrode de référence utilisée (AgCl/Ag).

Ces études ont été effectuées en faisant tourner l'électrode à une vitesse $N = 100$ tours par minute. Le balayage du potentiel est réalisé sur le disque et le potentiel de l'anneau est fixé à 0,8 V par rapport à la référence AgCl/Ag . C'est à ce potentiel que les espèces partiellement réduites de l'oxygène libérées sur le disque sont réoxydées. Les voltampérogrammes stationnaires obtenus sur le disque modifié par l'adsorption de $[54\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ et $[54\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{I}}]^{2+}$ sont représentés sur les graphiques du bas de la **Figure 117** ci-dessous. Le graphique du haut correspond à la mesure du courant sur l'anneau qui permet la détection d'eau oxygénée.

La réduction diélectronique du dioxygène en l'absence de catalyseur adsorbé sur le disque sert de référence pour la mesure des courants (courbe noire). Le nombre d'électrons échangés est estimé par comparaison entre le plateau de diffusion obtenu au disque pour l'oxygène seul (correspondant à une réduction biélectronique) et le plateau obtenu après adsorption de la porphyrine. La quantité d'eau oxygénée formée permet de déduire l'efficacité de notre catalyseur.

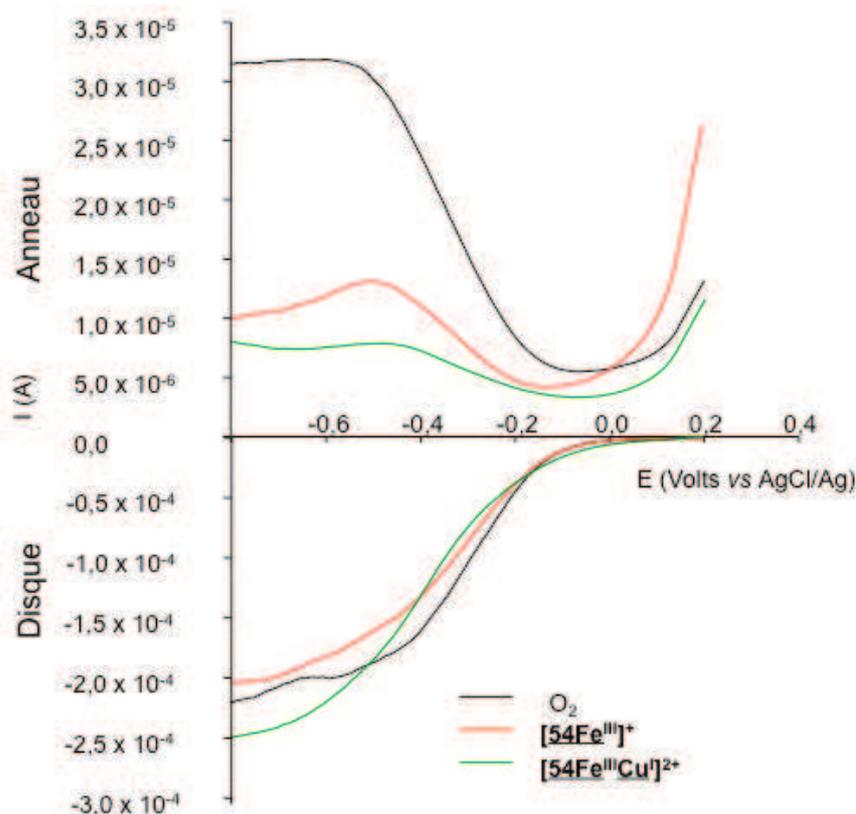


Figure 117 : courants de disque et d'anneau d'une électrode disque-anneau tournante, modifiée sur le disque par l'adsorption de $[54\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ (courbe rouge) et de $[54\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{I}}]^{2+}$ (courbe verte) en fonction du potentiel imposé au disque ; milieu : H_2O , $\text{pH} = 7$, saturé en O_2 , $N = 100$ tours. min^{-1} .

La réduction non catalysée du dioxygène (en H_2O_2) qui nous sert de référence (courbe noire) s'effectue vers $-0,3$ V. Que ce soit le complexe $[54\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ ou le complexe $[54\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{I}}]^{2+}$ qui est adsorbé sur le disque, cette réduction s'effectue à peu près au même potentiel. L'utilisation de notre catalyseur ne facilite donc pas la réduction du dioxygène. Le début du plateau peut être observé et a été vérifié dans le cas d'expériences similaires sur des composés analogues. La courbe obtenue de manière concomitante à l'anneau montre par contre une très faible production d'eau oxygénée avec le fer seul qui devient quasi nulle lorsque le cuivre(I) est inséré. Pour un même courant de réduction de l'oxygène, la quantité d'eau oxygénée détectée à l'anneau permet d'estimer la contribution d'un mécanisme à 2 électrons car l'absence de réduction tétraélectronique fournirait une quantité d'eau oxygénée équivalente à la réduction non catalysée. En présence de catalyseur, l'intensité du courant à l'anneau permet donc une quantification approximative de la contribution de chaque mécanisme à la réduction du dioxygène. En présence de $[54\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ 30 % de la réduction de O_2 s'effectue dans un mécanisme à 2 électrons et 70 % à 4 électrons, alors que lorsque $[54\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{I}}]^{2+}$ est adsorbé sur le disque, seulement 25 % de la réduction de O_2 s'effectue à 2 électrons contre 75 % à 4 électrons.

La comparaison entre les complexes de fer seul et de fer/cuivre du Dr M. Lo montre une réduction du dioxygène facilitée lorsque le cuivre(I) est inséré dans l'anse phénanthroline. Une faible quantité de peroxydes est alors libérée et un abaissement de surtension d'environ 0,2 V est constaté. D'après les études en voltampérométrie cyclique, le potentiel de réduction du fer(III) de ce complexe est moins négatif que dans le cas de $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{III}}\underline{\text{Cu}}^{\text{I}}]^{2+}$. Les problèmes de tensions inhérents à ce modèle et évoqués précédemment sont probablement responsables de ce comportement. En effet, le bras pyridinique distal coordonné au cuivre(I) a tendance à tirer sur le bras proximal coordonné au fer(III). La liaison entre la pyridine et le fer(III) n'est pas optimale, le fer s'appauvrit en électrons et est plus facile à réduire.

Comme déjà évoqué dans l'analyse par infrarouge de notre modèle de cytochrome *c* oxydase, ces problèmes de tension des bras pyridiniques n'existent pas dans le cas du complexe $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{III}}\underline{\text{Cu}}^{\text{I}}]^{2+}$. Le découplage sur les deux positions meso de la porphyrine garantit une souplesse au système. Ainsi, la pyridine proximale proche de la lutidine et intrinsèquement plus basique que celle de l'analogue du Dr M. Lo, reste bien coordonnée au fer(III). La réduction du fer(III) en fer(II) est plus difficile et la réduction du dioxygène n'est pas facilitée en termes de potentiel, mais plus efficace quant à la contribution d'un mécanisme à 4 électrons.

Le pouvoir donneur des bases axiales a été discuté par Collman *et al.* Dans ses travaux¹³⁴, il a suggéré que l'utilisation d'un imidazole plus « biomimétique » comme base axiale plutôt qu'une pyridine est responsable du gain en potentiel pour la réduction de O₂. Or dans le cas présent, les observations constatées avec l'utilisation d'une base axiale plus électrodonneuse semblent aller dans le sens contraire. Cependant, la comparaison effectuée par Collman entre ses modèles, montre des différences structurales notables du bras pendant reliant la base axiale à la porphyrine. Le connecteur utilisé est souple lorsqu'une pyridine est incorporée comme bras proximal et rigide dans le cas d'un imidazole. Il est par conséquent possible que le potentiel de réduction du fer, donc le potentiel de catalyse de la réduction de l'oxygène soit ajusté par une approche plus ou moins « tendue » de l'histidine proximale dans l'enzyme.

¹³⁴ a) Collman, J. P.; Rapta, M.; Bröring, M.; Raptova, L.; Schwenniger, R.; Boitrel, B.; Fu, L.; L'Her, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 1387, b) Collman, J. P.; Schwenniger, R.; Raptova, L.; Bröring, M.; Fu, L. *Chem. Commun.* **1999**, 2, 137.

V. Conclusion

Différentes techniques ont été utilisées pour caractériser la réactivité des composés $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ et $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{III}}\underline{\text{Cu}}^{\text{I}}]^{2+}$ vis-à-vis du dioxygène et du monoxyde de carbone. Les études par spectrophotométrie UV-Visible sur $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ ont tout d'abord mis en évidence la présence d'un complexe de fer(II) partiellement oxygéné, lors de la réduction de $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ en $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{II}}]$. Elles ont également permis d'observer la formation du complexe binucléaire $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{III}}\underline{\text{Cu}}^{\text{I}}]^{2+}$.

La géométrie du fer(III) et du fer(II) et les états de spin de notre nouveau modèle de cytochrome *c* oxydase ont été suivis par spectroscopie RMN du proton. Il a plus particulièrement été montré que la réduction de la porphyrine $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ génère un complexe de fer(II) haut spin pentacoordiné, contrairement à des précédents modèles exhibant une géométrie hexacoordinée autour du fer(II). Cependant l'état fer(II) de la porphyrine $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{III}}\underline{\text{Cu}}^{\text{I}}]^{2+}$ n'a pas pu être isolé. En effet, la réduction du complexe de fer(III) analogue conduit à un spectre RMN d'un composé diamagnétique, où le complexe étudié est déjà partiellement oxygéné, indiquant une affinité très forte pour l'oxygène moléculaire. Que ce soit en UV-Visible ou en RMN, le dioxygène fixé par les complexes de fer(II) a été déplacé en présence de monoxyde de carbone.

La spectroscopie de résonance Raman a par la suite été utilisée. Grâce à cette technique, les changements de l'état de spin et de l'état d'oxydation de $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{III}}\underline{\text{Cu}}^{\text{I}}]^{2+}$ ont été analysés. À nouveau, la réduction du fer(III) en fer(II) de $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{III}}\underline{\text{Cu}}^{\text{I}}]^{2+}$ conduit à une espèce partiellement oxygénée, confirmant la grande affinité de ce complexe pour l'oxygène déjà constatée auparavant. La spectroscopie infrarouge a quant à elle été utilisée pour détecter la fixation de CO sur le fer(II) dans les composés $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{II}}]$ et $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{II}}\underline{\text{Cu}}^{\text{I}}]^+$. L'insertion du cuivre(I) entraîne un déplacement et un élargissement de la bande de fréquence de C-O, suggérant respectivement l'absence de conformères différents correspondant à des géométries distinctes du monoxyde de carbone coordonné sur la face distale et une interaction de l'oxygène de CO avec le cuivre(I).

Enfin, la réactivité des complexes $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ et $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{III}}\underline{\text{Cu}}^{\text{I}}]^{2+}$ a été étudié par électrochimie à la fois en solution par voltampérométrie cyclique et adsorbés sur une électrode rotative « disque-anneau ». Comparé au complexe fer/cuivre du Dr M. Lo, le dioxygène semble interagir à la fois avec le fer(III) et le cuivre(I). L'oxydation du cuivre(I) et la réduction du fer(III) du composé $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{III}}\underline{\text{Cu}}^{\text{I}}]^{2+}$ sont alors facilitées. Ces changements pourraient être attribués à la présence combinée d'une cavité oxophile et d'un bras pyridinique distal flexible. Du point de vue des performances électrocatalytiques, l'utilisation d'une base axiale donneuse

semble défavorable. En effet, la réduction du fer(III) en fer(II) est plus difficile que dans le cas du modèle du Dr M. Lo. La réduction du dioxygène n'est pas facilitée en termes de potentiel, mais néanmoins relativement efficace quant à la contribution d'un mécanisme à 4 électrons, la quantité d'eau oxygénée détectée restant faible.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Conclusion générale et perspectives

Les hémoprotéines sont responsables d'un grand nombre de réactions chimiques au sein du vivant. Elles sont constituées d'un motif porphyrinique unique (protoporphyrine IX), dont l'environnement protéique est responsable de la spécificité de chaque enzyme. S'inspirant des prouesses de la Nature, le travail décrit dans ce manuscrit avait pour objectif de contribuer à la mise au point d'analogues biomimétiques d'hémoprotéines construit sur un motif de porphyrine à anse phénanthroline, **la Porphen**. Cette structure de départ a l'avantage de posséder un site distal prédéfini et une bonne accessibilité synthétique. Des variations autour de ce motif ont permis d'envisager trois modèles cibles.

La stratégie synthétique pour parvenir au modèle cible de cytochrome P450 est basée sur l'utilisation de la **Porphen** préalablement fonctionnalisée et d'une anse permettant la coordination de la base axiale. Trois anses ont été synthétisées. La première est constituée d'un dérivé soufré mimant la cystéine des systèmes naturels. Sa réaction avec la Porphen fonctionnalisée [**12Zn^{II}**] fournit un composé, dont des difficultés de déprotection du groupement thiol n'ont pas permis d'éliminer le groupement acétamide pour parvenir au thiol déprotégé. En parallèle, une anse pyridinique **27** a été conçue. Cependant, pour des raisons de contraintes de taille de l'anse, sa condensation avec la Porphen [**12Zn^{II}**] n'a pas été fructueuse. Pour contourner ces problèmes géométriques, l'anse **37** a été synthétisée, mais la réaction avec la porphyrine **12** n'a pas été réalisée. En effet, l'étape consistant en quatre réarrangements de Claisen dans la synthèse du composé **12** fournit des rendements aléatoires et nécessitent des conditions de réaction dures. Un autre modèle ne possédant plus ces quatre fonctions allyles a alors été envisagé. La réaction entre son précurseur [**10Zn^{II}**] et **37** a été effectuée, mais des problèmes de solubilité du composé d'arrivée n'ont pas permis sa caractérisation. La présence de groupements solubilisants sur nos modèles semble donc primordiale. C'est pourquoi, le composé **44** a été synthétisé. Il constitue un bon intermédiaire dans la conception d'un nouvel analogue d'hémoprotéine, car l'anse pyridinique peut être directement greffée sur l'anse phénanthroline, réglant ainsi d'éventuelles contraintes de taille, et la substitution des positions *meso* permet un contrôle de la solubilité des modèles.

Par ailleurs, un modèle de myoglobine a été envisagé. Le composé [**50Zn^{II}**] a été obtenu par une synthèse multi-étapes efficace. Cette synthèse consiste à greffer un bras pyridinique comme base axiale proximale sur l'une des positions *meso* de la **Porphen**. L'introduction

ultérieure de gêne stérique et d'une charge positive dans la cavité, laisse entrevoir la possibilité d'une discrimination CO/O₂.

En parallèle, un autre composé a été conçu pour modéliser le site actif de la cytochrome *c* oxydase. L'approche synthétique de ce nouveau composé est analogue à celle de [50Zn^{II}] mais fournit une porphyrine [54Zn^{II}] dont les deux positions *meso* sont substituées par des bras pyridiniques. L'une d'eux sert de base axiale proximale, alors que l'autre, sert de ligand auxiliaire du cuivre lors de son insertion dans l'anse phénanthroline distale. Le complexe [54Zn^{II}] est obtenu sous forme d'un mélange d'atropoisomères, dû à la rotation de la liaison *meso*-aryl de la porphyrine.

Ces phénomènes dynamiques ont été étudiés par RMN du proton (unidimensionnelle et bidimensionnelle) à 0 °C. L'un des atropoisomères, isolé par chromatographie sur colonne à froid, a été caractérisé comme étant le composé ββ[54Zn^{II}]. Des études par RMN ¹H à température variable ont mis en évidence l'échange des pyridines sur le zinc toute les 2 ms. Pour s'assurer de l'orientation sur la face distale de la porphyrine de l'un des bras pyridiniques, l'insertion du Cu(I) dans la phénanthroline a été réalisée, fournissant le complexe [54Zn^{II}Cu^I]⁺. La présence de cuivre(I) permet de bloquer la rotation autour de la liaison *meso*-aryl de l'un des bras, par coordination de la pyridine sur le Cu(I). Le suivi par RMN ¹H (unidimensionnelle et bidimensionnelle) a bel bien confirmé la formation d'une espèce bimétallique possédant un bras pyridinique sur la face proximale et l'autre sur la face distale.

Le remplacement du zinc par du fer dans le composé [54Zn^{II}] a permis par la suite l'étude de la coordination d'un sixième ligand exogène dans le site distal de [54Fe^{III}]⁺. Plus particulièrement, l'évolution de la géométrie du complexe a été suivie par spectrophotométrie UV-Visible et RPE. La complexation de ligands azotés (imidazole, 2-méthylimidazole, N-méthylimidazole et pyridine) sur [54Fe^{III}]⁺ forme dans tous les cas un complexe [1 récepteur/1 substrat]. Les constantes d'association calculées varient en fonction du pK_a des bases utilisées. Le découplage des bras pyridiniques et l'insertion d'un carbone supplémentaire sur la chaîne alkyle permettent de contourner des problèmes de tension déjà constatés sur des modèles précédents possédant des ligands pyridiniques pendants plus courts.

Pour valider notre nouveau modèle comme mime de la cytochrome *c* oxydase, sa réactivité vis-à-vis de O₂ a été étudiée. Différentes techniques ont été utilisées pour caractériser les espèces obtenues lorsque les composés [54Fe^{II}] et [54Fe^{II}Cu^I]⁺ sont mis en présence de O₂ et de CO. Les études par spectrophotométrie UV-Visible ont fourni des informations sur la coordination du dioxygène et ont tout d'abord mis en évidence, la présence d'un complexe de

fer(II) partiellement oxygéné, lors de la réduction de $[\mathbf{54Fe}^{\text{III}}]^+$ en $[\mathbf{54Fe}^{\text{II}}]$. Elles ont également permis d'observer la formation du complexe binucléaire $[\mathbf{54Fe}^{\text{III}}\mathbf{Cu}^{\text{I}}]^{2+}$. La géométrie et les états de spin du fer(III) et du fer(II) de ces deux complexes ont ensuite été analysés par RMN du proton. L'utilisation d'un bras pyridinique distal encombré s'est montrée efficace dans le contrôle de la coordination distale de $[\mathbf{54Fe}^{\text{III}}]^+$. En effet, la réduction de la porphyrine $[\mathbf{54Fe}^{\text{III}}]^+$ génère un complexe de fer(II) haut spin pentacoordiné n'impliquant pas le bras distal dans la coordination du fer(II), contrairement à des précédents modèles dans lesquels une géométrie hexacoordinée autour du fer(II) était observée. Le spectre RMN enregistré après la réduction du fer(III) de $[\mathbf{54Fe}^{\text{III}}\mathbf{Cu}^{\text{I}}]^{2+}$ en fer(II) correspond de manière surprenante à un composé diamagnétique. Il s'est avéré que le complexe étudié était déjà partiellement oxygéné, indiquant une affinité très forte pour l'oxygène moléculaire. Que ce soit en UV-Visible ou en RMN, la réversibilité du dioxygène a été montrée, par remplacement par du monoxyde de carbone.

Les spectroscopies vibrationnelles Infra-Rouge et résonance Raman ont ensuite été utilisées. Ces techniques ont permis dans un premier temps de préciser les états de spin et d'oxydation de $[\mathbf{54Fe}^{\text{III}}\mathbf{Cu}^{\text{I}}]^{2+}$ et dans un second temps de détecter la fixation de CO sur le fer(II) dans les composés $[\mathbf{54Fe}^{\text{II}}]$ et $[\mathbf{54Fe}^{\text{II}}\mathbf{Cu}^{\text{I}}]^+$. La forte affinité de notre modèle de cytochrome *c* oxydase pour le dioxygène a de nouveau été confirmée par la présence d'une espèce partiellement oxygénée lors de la réduction du fer(III) en fer(II) de $[\mathbf{54Fe}^{\text{III}}\mathbf{Cu}^{\text{I}}]^{2+}$. De même, en présence de cuivre(I), la souplesse de cette nouvelle architecture évite l'inclinaison forcée de l'anse phénanthroline distale. Le monoxyde de carbone ne subit plus de contraintes géométriques et une seule orientation stable de CO permettant une interaction de l'oxygène avec le cuivre est observée.

Enfin, la réactivité des complexes $[\mathbf{54Fe}^{\text{III}}]^+$ et $[\mathbf{54Fe}^{\text{III}}\mathbf{Cu}^{\text{I}}]^{2+}$ a été étudiée par électrochimie à la fois en solution par voltampérométrie cyclique et adsorbés sur une électrode tournante « disque-anneau ». Dans le cas du complexe $[\mathbf{54Fe}^{\text{III}}\mathbf{Cu}^{\text{I}}]^{2+}$ on observe une réduction du fer(III) et une oxydation du cuivre(I) facilitées, de manière assez surprenante. On peut donc émettre l'hypothèse que la cavité présente un caractère oxophile et que la flexibilité du bras pyridinique distal semble permettre, en présence de O₂, la déformation de la sphère de coordination du cuivre(I), facilitant son oxydation. L'influence de la présence de l'oxygène sur la réduction du fer(III) reste à préciser et peut simplement provenir des changements géométriques. La réduction du dioxygène n'est pas facilitée en termes de potentiel, mais plus efficace quant à la contribution d'un mécanisme à 4 électrons.

La comparaison de ce nouvel analogue de cytochrome *c* oxydase avec un précédent modèle a montré que des petites variations autour d'un même site distal générique entraîne des changements de comportement significatifs. Cependant, la fixation de dioxygène reste réversible dans le cas des composés du Dr M. Lo et pour $[54\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cu}^{\text{I}}]^+$, bien que des ligands axiaux proximaux du fer(III) différents aient été utilisés. Ainsi, la distance fer-cuivre semble jouer un rôle important dans la fixation du dioxygène, et celle exhibée par le composé $[54\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cu}^{\text{I}}]^+$ semble correspondre à la distance requise. Les travaux décrits dans ce manuscrit confirment bien que l'approche consistant à utiliser un site distal à caractère générique sur lequel sont réalisés des ajustements fins permet à la fois de confirmer la complexité des paramètres influant sur la réactivité des modèles d'hémoprotéines, et dans le même temps de proposer une voie de rationalisation de paramètres structuraux régissant cette même réactivité.

Plusieurs évolutions et études complémentaires à ce travail peuvent être envisagées. Concernant l'analogue du site actif de la cytochrome *c* oxydase il serait dans un premier temps intéressant d'effectuer un examen systématique de l'effet du pKa de la base proximale, en remplaçant les bases axiales de type lutidines de $[54\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ par des pyridines, puis par des imidazoles. L'étude électrochimique comparative de ces composés permettrait d'en déduire l'influence de la base axiale utilisée d'une part sur le potentiel de réduction du fer(III) et d'autre part sur l'effet catalytique de la réduction du dioxygène.

Un dispositif expérimental doit également être mis en place pour la détection des gaz (O_2 et CO) en spectroscopie de résonance Raman. En effet, l'absence d'une cellule réfrigérée n'a pas permis de localiser les fréquences de vibration de Fe-O_2 et de Fe-CO sur le complexe $[54\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cu}^{\text{I}}]^+$. Par la suite, l'utilisation d' $^{18}\text{O}_2$ à la place de O_2 permettrait de confirmer l'attribution de la bande Fe-O_2 .

D'un point de vue synthétique, le greffage de l'anse **37** sur l'intermédiaire **44** reste à réaliser pour obtenir un modèle de cytochrome P450. À travers les différentes étapes pour l'élaboration d'analogues de cytochrome P450 décrits dans ce travail, il a été montré que la présence de groupements solubilisants sur les modèles est une nécessité. Le composé bis-anse formé à partir de la réaction de l'anse pyridinique **37** sur la porphyrine **44** peut offrir encore des possibilités de post-fonctionnalisation, en vue du contrôle ultérieur de sa solubilité.

D'autre part, la réaction de méthylation d'un des atomes d'azote de l'anse phénanthroline du composé $[50\text{Zn}^{\text{II}}]$ doit encore être optimisée. Une fois les conditions opératoires mises au

point, le passage à la chimie de coordination du fer pourrait permettre d'étudier la réactivité du nouveau complexe formé en présence de O₂.

D'autres approches basées sur la « reconstruction d'hémoprotéines » ont pour but d'augmenter ou de moduler certaines fonctions d'hémoprotéines, en remplaçant l'hème naturel par un dérivé d'hème synthétique (**Figure 118**). Le groupe de Hayashi *et al*¹³⁵ a ainsi obtenu des systèmes possédant des propriétés physicochimiques ou enzymatiques uniques, et plus particulièrement des affinités pour O₂ supérieures à l'hémoprotéine naturelle.

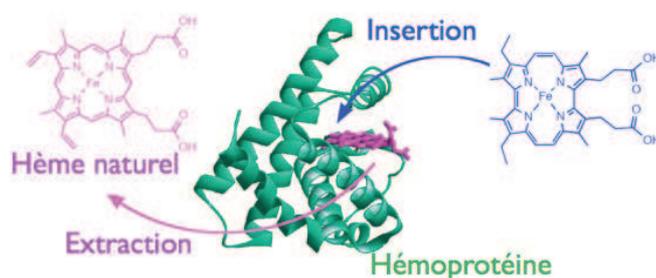


Figure 118 : modèle de reconstruction de myoglobine avec un hème artificiel.

Un projet du laboratoire vise l'élaboration de modèles d'hémoprotéines construits par assemblage de cyclodextrines et de **Porphen** fonctionnalisée (**Figure 119**). Ces édifices à caractère supramoléculaires pourraient permettre une approche généralisée de la modélisation d'hémoprotéines en milieux aqueux, tirant ainsi parti de la présence de cyclodextrines comme proposé récemment par le groupe de K. Kano.¹³⁶

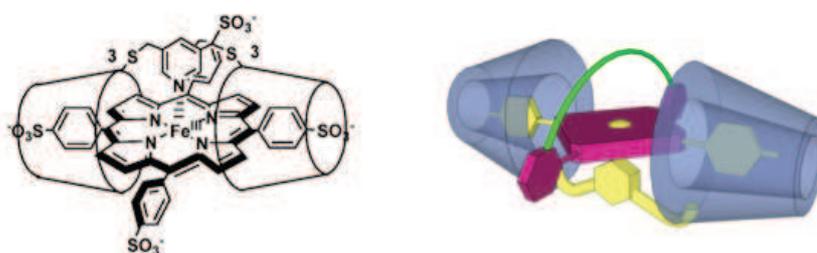


Figure 119 : modèle de Kano à gauche et greffage d'un dimère de cyclodextrine sur un dérivé de Porphen à droite.

¹³⁵ Matsuo, T.; Dejima, H.; Hirota, S.; Murata, D.; Sato, H.; Ikegami, T.; Hori, H.; Hisaeda, Y.; Hayashi, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 16007.

¹³⁶ a) Kitagishi, H.; Tamaki, M.; Ueda, T.; Hirota, S.; Ohta, T.; Naruta, Y.; Kano, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 16730, b) Kitagishi, H.; Negi, S.; Kiriya, A.; Honbo, A.; Sugiura, Y.; Kano, K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 1312.

Il est évident que quelles que soient les orientations des travaux futurs, les composés décrits et étudiés dans ce manuscrit permettent d'agrandir la famille des porphyrines à anse phénanthroline utilisées comme modèles d'hémoprotéines. D'une part, les succès synthétiques comme les échecs, permettent d'affiner les stratégies pour les nouvelles cibles. D'autre part, les observations décrites dans ce manuscrit contribuent à la rationalisation de légères modifications fonctionnelles de la périphérie de l'hème dans les modèles d'hémoprotéines.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Experimental part

I. General methods and materials

Commercially available reagents and solvents were used as purchased without purification. P(*o*-tolyl)₃ was prepared according to the literature,⁹⁹ as was Pd(PPh₃)₄.¹³⁷ THF and toluene were distilled over Na/benzophenone under argon until the solution was blue. Dichloromethane was distilled over CaH₂. Triethylamine and diisopropylamine were distilled over KOH under argon. DMF was dried on molecular sieves.

Column chromatography was performed with alumina or silica gel from Merck (aluminium oxide 60 standardized; silica gel 60, 0.063-0.200 nm). Flash chromatography was performed using Puriflash Minibox with puriflash column 50 silica HP. High dilution reactions were performed using the syringe pump 49900 KD Scientific.

NMR spectra (¹H-¹³C) were recorded on Bruker Avance 500, Avance 400 and Avance 300 spectrometers. Spectra were referenced with residual solvent protons. EPR spectra were recorded on a Bruker EMX spectrometer working in X band (9.4 GHz). Mass spectra were recorded at the Service de Spectrométrie de Masse on a MicroTOF LC Bruker Daltonics spectrometer. UV-Visible spectra were recorded on an Agilent 8453E spectrometer.

I.1 Attenuated Total Reflection in Mid infrared (ATR MIR) experiments

The ATR-MIR absorbance spectra were obtained at room temperature with a Vertex 70 FTIR spectrometer (Bruker), and an ATR cell (Harrick) equipped with a diamond crystal (6 mm²). A conventional globar source, a Ge/KBr beamsplitter and a MCT detector were used. Typically 256 scans at a spectral resolution of 2 cm⁻¹ were averaged. The spectrometer was purged with dry air to avoid the contributions from humidity. The ATR cell was placed in a glove bag, allowing manipulation of all the samples under a pressure of argon. Residual absorption of gas water on the spectra was subtracted. All spectra were smoothed with nine points.

¹³⁷ Malatesia, L.; Angoletta, M. J. Chem. Soc. 1957, 1186.

1.3 Electrochemistry in CH₂Cl₂ solution

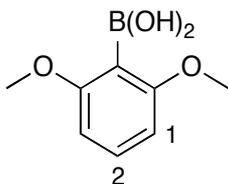
Electrochemical measurements were carried out at 20 °C in CH₂Cl₂ containing 0.1 M *n*Bu₄NPF₆ in a classical three-electrode cell. CH₂Cl₂ was purchased in spectroscopic grade from Merck, dried over molecular sieves (4 Å), and stored under Ar prior to use. *n*Bu₄NPF₆ was purchased in electrochemical grade from Fluka and used as received. The working electrode was a glassy carbon disk electrode (3 mm in diameter) used either motionless for cyclic voltammetry (CV; 0.1 to 10 V s⁻¹) or as rotating-disk electrode for rotating disk voltammetry (RDV). The auxiliary electrode was a Pt wire, and the reference electrode was a platinum wire used as a pseudo-reference electrode. All potentials are referenced to the ferricinium/ferrocene (Fc⁺/Fc) couple, used as an internal standard, and are uncorrected from ohmic drop. The cell was connected to an Autolab PGSTAT30 potentiostat (Eco Chemie BV, Utrecht, The Netherlands) driven by a GPSE software running on a personal computer.

1.4 Rotating ring-disk electrode (RRDE) experiments.

The rotating ring-disk assembly (AFMT29TGEPT from Pine Instruments Company) consisted of an edge-oriented pyrolytic graphite disk (EOPG diameter 5.6 mm) surrounded by a platinum ring (inner diameter 6.2 mm, outer diameter 7.9 mm). The EOPG disk and the ring are separated by an insulating ring of Teflon. A bipotentiostat Autolab PGSTAT 20 (Eco Chemie B. V. Utrecht, Holland) was used to control the potential of the disk and to maintain the ring potential at 0.8 V *vs* AgCl/Ag. A platinum wire was used as the counter-electrode. The reference electrode was an AgCl/Ag aqueous KCl saturated electrode. The EOPG disk was cleaned with a wet 600 grit SiC paper and sonicated for 1 min in water prior to depositing a catalyst. Catalysts were deposited using the drop-casting method: the ring-disk assembly was dipped in a 1 mM solution of catalyst in CH₂Cl₂, and then dipped once in fresh solvent to remove any catalyst also deposited on the ring. Measurements were carried out in distilled water buffered at pH = 7 (0.05 M KH₂PO₄/0.1 M Na₂HPO₄, FIXANAL Riedel-de Haën) and saturated with O₂ at atmospheric pressure with a rotation rate of 100 rpm for the ring disk electrode.

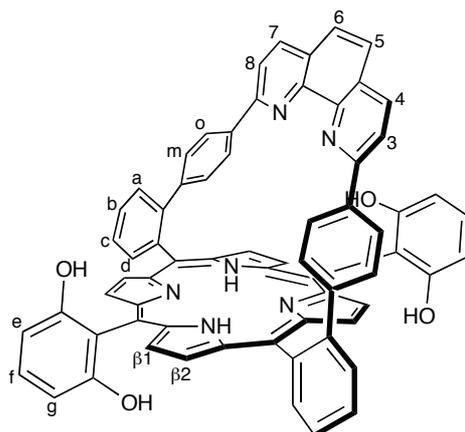
II. Experimental procedure section

Porphyrins 8 and 9 were prepared according to the literature.^{90,93}

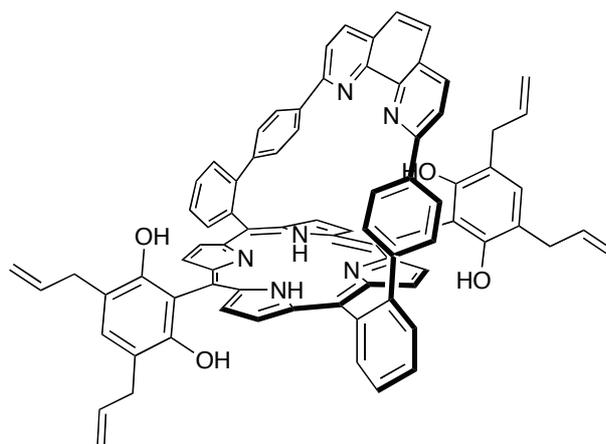
Acide 2,6-diméthoxyphényle boronique

1,3-Dimethoxybenzene (10 g, 72.37 mmol) was dissolved in 100 mL of degassed THF and then cooled to $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. n -Butyl lithium (49.8 mL of a 1.6 M solution in hexane, 79.61 mmol) was added dropwise and the mixture was stirred for 1 h at $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. The solution was then transferred under argon to a degassed solution of trimethylborate (16.5 mL, 0.1 mol) in 150 mL of THF and stirring was continued for 2 h. During this period, the mixture was allowed to warm to room temperature. The THF was evaporated and the crude mixture was dissolved in diethylether (250 mL) and acidified with 10% aqueous HCl (250 mL). The boronic acid in the organic phase was crudely purified by acid-base extraction as follows. The ethereal layer was washed with 1 M NaOH (aq), then the aqueous phase was acidified with 3 M HCl (aq). 2,6-Dimethoxyphenylboronic acid was obtained as a yellow solid (7.90 g, 43.41 mmol, 60%) after extracting the acidified aqueous layer with Et_2O , drying the organic phase over Na_2SO_4 , filtering and removing solvent under reduced pressure. The product was used without further purification.

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz): $\delta = 7.39$ (t, 1H, $J = 9$ Hz, H_2), 7.22 (broad s, 2H, OH), 6.65 (d, 2H, $J = 9$ Hz, H_1), 3.91 (s, 6H, CH_3).

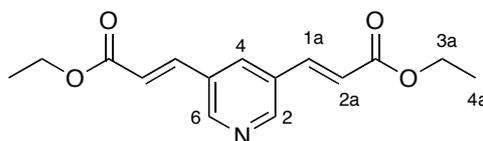
Porphyrin 10

Boron tribromide (0.29 mL, 3.01 mmol) was added dropwise, under argon, to a solution of porphyrin **9** (160 mg, 0.15 mmol) in 50 mL of dry dichloromethane. The mixture was refluxed overnight and the excess boron tribromide was quenched with 10 mL of methanol. The solvents were evaporated under vacuum and more methanol (10 mL) was added and evaporated to remove the excess boron in the form of trimethylborate. The green solid was taken in 50 mL of

Porphyrin 12

Porphyrin 11 (45 mg, 0.04 mmol) in 30 mL of melted degassed diphenyl ether was heated at 200 °C for 20 h under argon. After cooling to ca 50 °C, the mixture was directly filtered by column chromatography (silica, cyclohexane), and eluted with a mixture of cyclohexane/ethyl acetate 5:1, until the diphenyl ether was removed. A 1:1 gradient of cyclohexane/EtOAc afford 37 mg of **12** (0.03 mmol, 79%).

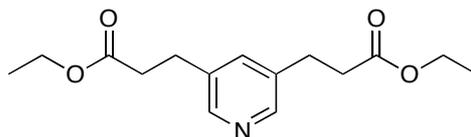
^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz): δ = 8.82 (s, 8H, H_α , H_β), 8.60 (d, 2H, J = 7.5 Hz, H_d), 7.99 (d, 2H, J = 8.1 Hz, $\text{H}_{4,7}$), 7.96-7.81 (m, 6H, H_a , H_b , H_c , H_f), 7.54 (d, 2H, J = 8.4 Hz, $\text{H}_{3,8}$), 7.52 (s, 2H, $\text{H}_{5,6}$), 6.83 (d, 4H, J = 8.1 Hz, H_o), 6.61 (d, 4H, J = 8.1 Hz, H_m), 6.15 (m, 4H, H_{2a}), 5.77 (s, 2H, OH), 5.24-5.06 (m, 8H, H_{3a}), 4.06 (s, 2H, OH), 3.55 (d, 4H, J = 6.3 Hz, H_{1a}), 3.44 (d, 4H, J = 6.3 Hz, H_{1a}), -2.14 (s, 2H, NH).

Pyridine 24

To a solution of ethylacrylate (0.45 mL, 4.07 mmol) and triethylamine (0.68 mL, 4.89 mmol) in 20 mL of degassed DMF, were added 3,5-dibromopyridine (387 mg, 1.63 mmol), $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (40 mg, 0.16 mmol) and tri-*o*-tolylphosphine (150 mg, 0.49 mmol). The reaction mixture was degassed and refluxed for 20 hours. After removing solvent under vacuum, the solid residue was dissolved in dichloromethane, washed with 1N HCl and water. The organic layer was dried over Na_2SO_4 , filtered and the solvent was removed under reduced pressure. The crude product was purified by chromatography (silica gel, dichloromethane/cyclohexane, 3:1) to afford 400 mg of the desired product **24** (1.45 mmol, 90%).

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz): δ = 8.72 (d, 2H, J = 2.0 Hz, H_2 , H_6), 7.94 (t, 1H, J = 2.0 Hz, H_4), 7.67 (d, 2H, J = 16.2 Hz, H_{2a}), 6.55 (d, 2H, J = 16.1 Hz, H_{1a}), 4.28 (q, 4H, J = 7.1 Hz, H_{3a}), 3.14 (t, 6H, J = 7.4 Hz, H_{4a}).

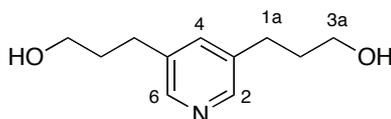
Pyridine 25



Palladium on charcoal (10%) (160 mg) was suspended in a solution of ethanol (50 mL) and ethyl acetate (50 mL) and hydrogen was bubbled through the mixture for 10 min to activate the catalyst. Subsequently, compound **24** (1.2 g, 4.36 mmol) was added and the hydrogen was bubbled through the solution for 10 min. The dark mixture was stirred overnight at room temperature under hydrogen atmosphere. The mixture was then filtered through a pad of celite and the solvent was removed under reduced pressure to afford 1.06 g of compound **25** as a yellow oil (3.79 mmol, 87%). The product was used without further purification.

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz): δ = 8.33 (d, 2H, J = 1.9 Hz, H_2 , H_6), 7.42 (t, 1H, J = 2.0 Hz, H_4), 4.12 (q, 4H, J = 7.2 Hz, H_{3a}), 2.93 (t, 4H, J = 7.6 Hz, H_{2a}), 3.61 (t, 4H, J = 7.6 Hz, H_{1a}), 1.21 (t, 6H, J = 7.3 Hz, H_{4a}).

Pyridine 26



To a solution of LiAlH_4 (1.02 g, 26.85 mmol) in dry THF (50 mL), compound **25** (2.50 g, 8.95 mmol) in THF (50 mL) was added dropwise over 30 min. The mixture was refluxed and stirred overnight. After cooling with an ice bath, the mixture was hydrolysed with 10 mL of water and filtered. The solvent was removed under vacuum to afford 1.30 g of compound **26** as a yellow oil (6.66 mmol, 75%) that was used without further purification.

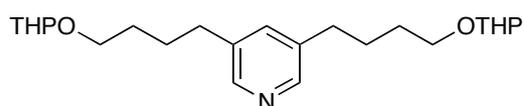
^1H NMR (D_2O , 300 MHz): δ = 8.04 (s, 2H, H_2 , H_6), 7.42 (s, 1H, H_4), 3.2 (t, 4H, J = 8.1 Hz, H_{3a}), 2.50 (t, 4H, J = 7.0 Hz, H_{1a}), 1.68 (m, 4H, J = 10.4 and 7.2 Hz, H_{2a}).

^{13}C NMR (D_2O , 75 MHz): δ = 147.19 (C_2), 136.30 (C_4), 61.38 (C_{3a}), 33.78 (C_{2a}) and 29.01 (C_{1a}).

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz): δ = 8.24 (s, 1H, H_6), 8.22 (s, 1H, H_2), 7.29 (broad s, 1H, H_4), 4.56 (dd, 1H, J = 4.2 Hz et 2.7 Hz, H_{5a}), 3.77 (m, 2H, H_{9a}), 3.40 (m, 2H, H_{7a}), 2.60 (dd, 2H, J = 7.5 and 6.8 Hz, H_{8a}), 2.29 (s, 3H, CH_3), 1.60 (m, 10H, H_{1a} , H_{2a} , H_{3a} , H_{4a} , H_{6a}).

MS (ESI-MS): exact mass calculated for $\text{C}_{15}\text{H}_{23}\text{NO}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: m/z = 250.171; found: 250.183.

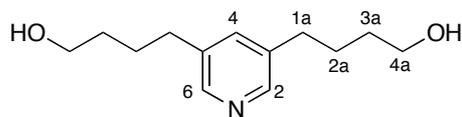
Pyridine 34



Pyridine 34 was prepared according to the procedure described for the synthesis of **33** from the following: **33** (1 g, 4.0 mmol), $^n\text{BuLi}$ (2.9 mL, 4.4 mmol), diisopropylamine (0.7 mL, 4.4 mmol) and THP-protected bromopropanol¹⁰¹ (1.96 g, 8.8 mmol). The desired product **34** (454 mg, 1.16 mmol, 29%) was obtained as an oil.

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz): δ = 8.31 (s, 2H, H_2 , H_6), 7.37 (s, 1H, H_4), 4.59 (dd, 1H, J = 4.1 Hz et 3.0 Hz, H_{5a}), 3.84 (m, 4H, H_{9a}), 3.57 (m, 4H, H_{7a}), 2.36 (d, 4H, J = 4.8 Hz, H_{8a}), 1.64 (m, 20H, H_{1a} , H_{2a} , H_{3a} , H_{4a} , H_{6a}).

Pyridine 35



Method A

A solution of compound **34** (1.06 g, 2.70 mmol) in 60 mL of ethanol was degassed for 10 minutes. *p*-Toluenesulfonic acid (2.05 g, 10.80 mmol) was added and the mixture was refluxed for 15 hours. The solvent was then removed under reduced pressure and the crude product was dissolved in dichloromethane. The solution was washed with water until pH 7, dried over Na_2SO_4 , filtered and the solvent was removed under reduced pressure. The product was purified by chromatography (silica gel, dichloromethane/methanol, 95:5) to afford 181 mg of the desired product **35** (0.81 mmol, 30%) as an oil.

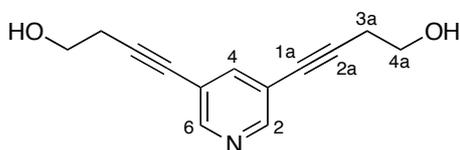
Method B

Palladium on charcoal (10%) (120 mg) was suspended in a solution of ethanol (30 mL) and ethyl acetate (30 mL) and hydrogen was bubbled through the mixture for 10 min to activate the catalyst. Subsequently, compound **36** (420 mg, 1.95 mmol) was added and the hydrogen was bubbled through the solution for 10 min. The dark mixture was stirred overnight at room temperature under hydrogen atmosphere. The mixture was then filtered through a pad of celite and the solvent was removed under reduced pressure to afford 454 mg of the compound **35** as a yellow oil (1.92 mmol, 98%) that was used without further purification.

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz): δ = 8.00 (d, 2H, J = 2.1 Hz, H_2 , H_6), 7.24 (t, 1H, J = 2.0 Hz, H_4), 4.77 (s, 2H, OH), 3.44 (t, 4H, J = 6.3 Hz, H_{4a}), 2.41 (t, 4H, J = 6.7 Hz, H_{1a}), 1.51 (m, 8H, H_{2a} et H_{3a}).

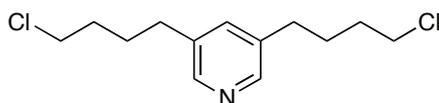
^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz): δ = 146.39 (C_2), 137.59 (C_4), 61.53 (C_{4a}), 32.45 (C_{3a}), 29.53 (C_{2a}) and 27.26 (C_{1a}).

Pyridine 36



3-Butyn-1-ol (0.4 mL, 5.06 mmol) was added to a degassed mixture of 3,5-dibromopyridine (500 mg, 2.11 mmol), CuI (100 mg, 0.53 mmol) and $\text{Pd}(\text{Cl})_2(\text{PPh}_3)_2$ (150 mg, 0.21 mmol) in dry triethylamine (15 mL) and dry THF (5 mL). After 6 hours of refluxing, the solvent was removed under reduced pressure and the residue was dissolved in a large amount of dichloromethane. The organic phase was washed with a 30% solution of NH_4OH and water. After drying over Na_2SO_4 and filtering, the solvent was removed under vacuum. The crude product was recrystallised in dichloromethane to afford 310 mg of pure compound **36** as a brown solid (1.44 mmol, 68%).

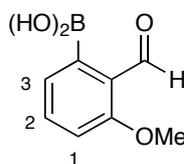
^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz): δ = 8.49 (s, 2H, H_2 , H_6), 7.67 (s, 1H, H_4), 3.79 (t, 4H, J = 6.6 Hz, H_{4a}), 2.68 (t, 4H, J = 6.6 Hz, H_{3a}).

Pyridine 37

Pyridine 37 was prepared according to the procedure described for the synthesis of **27** from the following: **35** (1.02 g, 4.57 mmol) and thionyl chloride (6.65 mL, 91.4 mmol). The desired product **37** (1.03 g, 4.43 mmol, 97%) was obtained as a brown oil.

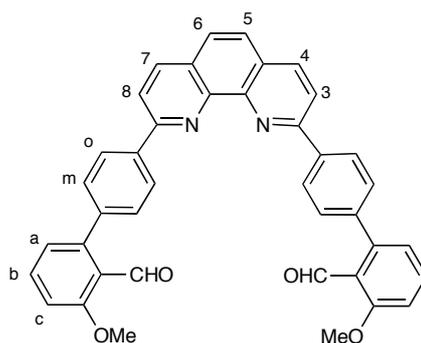
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz): δ = 8.17 (d, 2H, J = 2.1 Hz, H_2, H_6), 7.22 (t, 1H, J = 2.0 Hz, H_4), 3.43 (t, 4H, J = 6.3 Hz, H_{4a}), 2.50 (t, 4H, J = 6.9, H_{1a}), 1.67 (m, 8H, $\text{H}_{2a}, \text{H}_{3a}$).

MS (ESI-MS): exact mass calculated for $\text{C}_{13}\text{H}_{19}\text{Cl}_2\text{N}$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$: m/z = 260.097; found: 260.087.

Boronic acid 42

Imidazoline **41** (1 g, 5.17 mmol) was dissolved in 5 mL of THF and then cooled to -78 °C. t Butyl lithium (7.8 mL of a 1.7 M solution in pentane, 12.93 mmol) was added dropwise and the mixture was stirred for 2 h at -78 °C. After addition of triisopropylborate (6 mL, 25.87 mmol), stirring was continued for 2 h. During this period, the mixture was allowed to warm to room temperature before hydrolysis with 20 mL of water. The layers were separated and the aqueous one was extracted three times with diethyl ether (60 mL). The combined organic fractions were washed with brine (30 mL) and dried over Na_2SO_4 . After filtration and evaporation of the solvent, the crude material was purified by column chromatography (silica gel, dichloromethane/methanol 1% then 4%) to afford 418 mg of the boronic acid **42** (2.32 mmol, 45%) as a yellow oil.

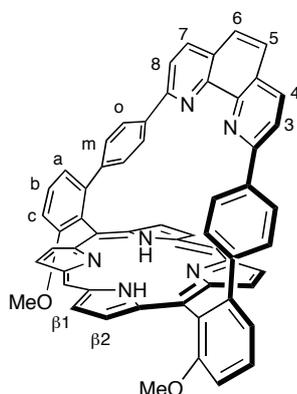
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz): δ = 10.47 (s, 1H, CHO), 7.81 (dd, 1H, J = 7.7 Hz and 1.8 Hz, H_3), 7.52 (td, 1H, J = 7.5 Hz and 2.0 Hz, H_2), (d, 1H, J = 7.7 Hz, H_1), 3.92 (s, 3H, OMe).

Dialdehyde 43

To a degassed solution of 2,9-bis(*p*-bromophenyl)-phenanthroline (350 mg, 0.71 mmol) and (92 mg, 0.08 mmol) of Pd(PPh)₃ in 15 mL of toluene were added, under argon, 7 mL of 2 M Na₂CO₃ and a solution of the boronic acid **42** (600 mg, 3.33 mmol) in 6 mL of MeOH. After 12 h of reflux, the organic layer was washed with 20 mL of 30% aqueous NH₄OH, then twice with 50 mL of H₂O and dried over Na₂SO₄. Filtration and evaporation of the solvent yielded a light brown solid, which was purified by chromatography (silica gel, dichloromethane/methanol, 99:1) to afford 258 mg of the desired product **43** (0.43 mmol, 60%) as yellow solid.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ = 10.18 (s, 2H, CHO), 8.49 (d, 4H, J = 8.1 Hz, H_o), 8.32 (d, 2H, J = 6.3 Hz, H_{4,7}), 8.17 (d, 2H, J = 6.3 Hz, H_{3,8}), 7.81 (s, 2H, H_{5,6}), 7.54 (d, 4H, J = 8.1 Hz, H_m), 7.03 (m, 6H, H_a, H_b, H_c), 3.97 (s, 6H, CH₃).

MS (ESI-MS): exact mass calculated for C₄₀H₂₈N₂O₄ [M+H]⁺: m/z = 601.66; found: 601.20.

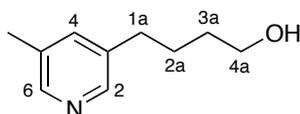
Porphyrin 44

To a degassed solution of dialdehyde **43** (240 mg, 0.39 mmol), in 1.5 L of CH₂Cl₂ were added dipyrromethane **5** (117 mg, 0.8 mmol) and 1.0 mL of CF₃COOH under argon. After stirring for 20 h at room temperature, 2,3-dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone (0.75 g, 3.31

mmol) was added and the mixture was stirred for 3 h under argon. Triethylamine (30 mL) was then added before repeated washing with 500 mL of H₂O. The organic layer was dried over Na₂SO₄, filtered and the solvent was evaporated to afford a black crude product that was purified by flash chromatography (alumina, dichloromethane) to afford 66 mg of the desired porphyrin **44** (0.08 mmol, 20%).

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ = 10.04 (s, 2H, H_{meso}), 9.16 (d, 4H, J = 4.6 Hz, H), 8.88 (d, 4H, J = 4.6 Hz, H), 7.87 (m, 4H, H_{4,7}, H_c), 7.44 (m, 8H, H_{3,8}, H_{5,6}, H_a, H_b), 6.43 (d, 4H, J = 8.1 Hz, H_o), 6.62 (d, 4H, J = 8.1 Hz, H_m), 3.79 (s, 6H, CH₃).

Pyridine 45



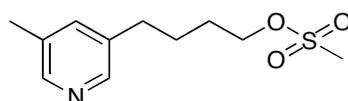
Pyridine 45 was prepared according to the procedure described for the synthesis of **35** from the following: **33** (1.8 g, 7.42 mmol) and *p*-toluenesulfonic acid (4.23 g, 22.25 mmol). The desired product **45** (723 mg, 4.37 mmol, 59%) was obtained as an oil.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ = 8.22 (s, 1H, H₆), 8.20 (s, 1H, H₂), 7.31 (broad s, 1H, H₄), 3.67 (t, 2H, J = 5.9 Hz, H_{4a}), 2.80 (broad s, 1H, OH), 2.59 (t, 2H, J = 7.2 Hz, H_{1a}), 2.28 (s, 3H CH₃), 1.63 (m, 4H, H_{2a}, H_{3a}).

¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz): δ = 147.17 (C₆), 146.52 (C₂), 137.31 (C₃), 136.78 (C₄), 132.78 (C₅), 61.68 (C_{4a}), 32.52 (C_{1a}), 32.22 (C_{2a}), 27.40 (C_{3a}), 18.21 (C_{CH3}).

MS (ESI-MS): exact mass calculated for C₁₀H₁₅NO [M+H]⁺: m/z = 166.120; found: 166.125.

Pyridine 46

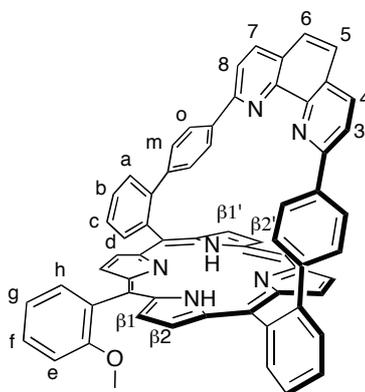


A solution of methane sulfonyl chloride (0.43 mL, 5.57 mmol) in 5 mL of dichloromethane was added dropwise to a solution of **45** (658 mg, 3.98 mmol) in triethylamine (1.10 mL, 7.96 mmol) and dichloromethane (40 mL) at 0 °C. The reaction was followed by TLC.

When no starting material was observed, the solvent was removed under reduced pressure to afford 0.92 g of the desired product **46** (3.86 mmol, 97%) as a yellow oil. The crude product was used without further purification.

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz): δ = 8.29 (d, 1H, J = 2.1 Hz, H_6), 8.25 (d, 1H, J = 2.1 Hz, H_2), 7.31 (broad s, 1H, H_4), 4.24 (t, 2H, J = 5.8 Hz, H_{4a}), 2.99 (s, 3H, CH_3 mesylate), 2.62 (t, 2H, J = 7.1 Hz, H_{1a}), 2.31 (s, 3H CH_3), 1.77 (m, 4H, H_{2a} , H_{3a}).

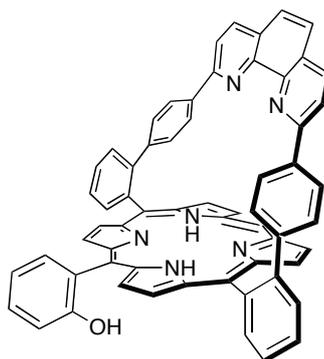
Porphyrin 48



To a degassed solution of monobromo-**Porphen 47** (100 mg, 0.11 mmol) in 20 mL of dry toluene, were added 2-methoxyphenylboronic acid¹⁰⁶ (87 mg, 0.57 mmol), K_2CO_3 (153 mg, 1.1 mmol) and $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (13 mg, 0.01 mmol). The reaction mixture was refluxed for 12 hours. The toluene was evaporated under reduced pressure and the solid was dissolved in dichloromethane. The organic layer was washed with a solution of aqueous ammonia (30%), then water and dried over Na_2SO_4 . The mixture was filtered and the solvent was removed under reduced pressure and the crude purified by flash chromatography (silica gel, dichloromethane) to afford 84 mg of **48** as a mixture of atropoisomers (0.09 mmol, 85%) as a purple solid.

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): δ = 10.07, (s, 1H, H_{meso}), 9.23 (d, 4H, J = 4.6 Hz, $\text{H}_{\beta 1'}$), 8.92 (d, 4H, J = 4.6 Hz, $\text{H}_{\beta 2'}$), 8.71 (d, 2H, J = 7.3 Hz, H_d), 8.67 (s, 4H, $\text{H}_{\beta 1, \beta 2}$), 8.36 (dd, 2H, J = 7.4 and 1.7 Hz, H_h), 7.95 (d, 2H, J = 8.4 Hz, $\text{H}_{4,7}$), 7.92-7.81 (m, 6H, H_a, b, c), 7.66 (ddd, 2H, J = 8.3, 7.5 and 1.8 Hz, H_f), 7.52 (d, 2H, J = 8.4 Hz, $\text{H}_{3,8}$), 7.48 (s, 2H, $\text{H}_{5,6}$), 7.27 (d, 2H, J = 7.6 Hz, H_g), 7.16 (d, 2H, J = 8.3 Hz, H_e), 6.75 (d, 4H, J = 8.1 Hz, H_o), 6.49 (d, 4H, J = 8.2 Hz, H_m), 3.38 (s, 3H, CH_3), -2.66 (s, 2H, NH).

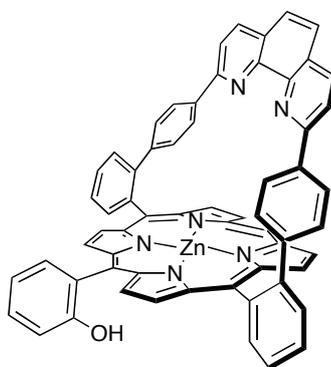
UV-Visible in CH_2Cl_2 : λ nm (ϵ in $\text{M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$) : 286 (65162), 419 (280701), 513 (15087), 546 (4035), 588 (5037), 643 (1804).

Porphyrin 49

Boron tribromide (0.15 mL, 1.49 mmol) was added dropwise, under argon, to a solution of porphyrin **48** (134 mg, 0.15 mmol) in 50 mL of dry dichloromethane. The mixture was refluxed overnight and the excess of boron tribromide was quenched with 10 mL of methanol. The solvents were evaporated under vacuum and more methanol (10 mL) was added and evaporated to remove the excess of boron in the form of trimethylborate. The green solid was taken in 50 mL of dichloromethane and washed twice with 40 mL of 2 M K_2CO_3 (aq), once with water and dried over Na_2SO_4 . Filtration and evaporation of the solvent afforded a crude dihydroxy porphyrin derivative that was purified by flash chromatography (silica gel, dichloromethane/ethyl acetate 10%) to afford 131 mg of a mixture of atropoisomers (0.14 mmol, 99%).

1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) confirmed the absence of the methoxy group at $\delta = 3.38$ ppm.

MS (ESI-MS): exact mass calculated for $C_{62}H_{38}N_6O$ $[M+H]^+$: $m/z = 883.31$; found : 883.32.

Porphyrin [49Zn^{II}]

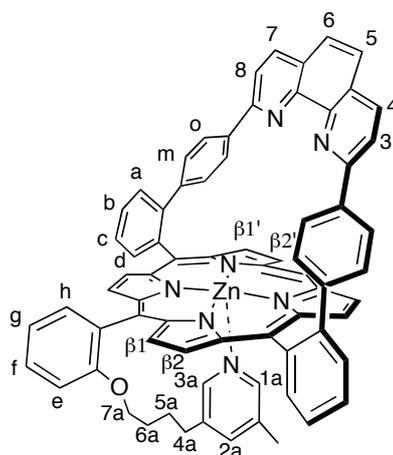
$Zn(Cl)_2$ (400 mg, 2.90 mmol) was added to a solution of hydroxy porphyrin derivative **49** (160 mg, 0.18 mmol) in 30 mL of DMF and the reaction mixture was refluxed for 4 hours. Crushed ice was then added and the desired Zn-porphyrin precipitated. The solid was filtered,

and washed with water and methanol. Recrystallisation in dichloromethane/methanol afforded 163 mg of the Zn-porphyrin (0.17 mmol, 96%) as a purple solid.

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) confirmed the absence of the -NH groups at $\delta = -2.66$ ppm.

MS (ESI-MS): exact mass calculated for $\text{C}_{62}\text{H}_{36}\text{N}_6\text{OZn}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: $m/z = 945.23$; found: 945.23.

Porphyrin [50Zn^{II}]



Freshly prepared **pyridine 46** (58 mg, 0.24 mmol) was added to a mixture of porphyrin [**49Zn^{II}**] (150 mg, 0.16 mmol), K_2CO_3 (45 mg, 0.32 mmol) and 18-crown-6 (catalytic amount: 2.18 mg, *ca* 1 μmol) in 50 mL of DMF dried over molecular sieves. The reaction mixture was heated at 80 °C overnight. Crushed ice was then added and the desired porphyrin [**50Zn^{II}**] precipitated. The solid was filtered, washed with water and purified by flash chromatography (silica, dichloromethane/cyclohexane, 4:1) to afford 122 mg of the compound [**50Zn^{II}**] (0.11 mmol, 70%) as a purple solid.

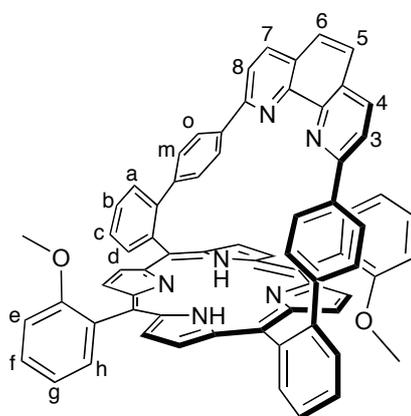
^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 10.03$, (s, 1H, H *meso*), 9.24 (d, 4H, $J = 4.4$ Hz, $\text{H}_{\beta 1'}$), 8.89 (d, 4H, $J = 4.4$ Hz, $\text{H}_{\beta 2'}$), 8.66 (d, 2H, $J = 7.3$ Hz, H_d), 8.63 (s, 4H, $\text{H}_{\beta 1, \beta 2}$), 8.37 (d, 2H, $J = 7.3$ Hz, H_h), 7.94 (d, 2H, $J = 8.4$ Hz, $\text{H}_{4,7}$), 7.88-7.76 (m, 6H, $\text{H}_{a, b, c}$), 7.58 (ddd, 2H, $J = 8.3, 7.5$ and 1.8 Hz, H_f), 7.53 (d, 2H, $J = 8.4$ Hz, $\text{H}_{3,8}$), 7.49 (s, 2H, $\text{H}_{5,6}$), 7.21 (d, 2H, $J = 7.2$ Hz, H_g), 7.03 (d, 2H, $J = 8.4$ Hz, H_e), 6.75 (d, 4H, $J = 8.0$ Hz, H_o), 6.46 (d, 4H, $J = 8.0$ Hz, H_m), 5.85 (broad s, 1H, H_{2a}), 3.69 (broad s, 2H, H_{7a}), 2.41 (broad s, 1H, H_{3a}), 2.28 (broad s, 1H, H_{1a}), 1.26 (broad s, 2H, H_{4a}), 0.98 (s, 3H, CH_3), 0.86 (m, 2H, H_{5a}), 0.47 (m, 2H, H_{6a}).

UV-Visible in CH₂Cl₂: λ nm (ϵ in M⁻¹cm⁻¹): 289 (41803), 430 (226775), 561 (11830), 600 (3469).

MS (ESI-MS): exact mass calculated for C₇₂H₄₉N₇OZn [M+H]⁺: m/z = 1092.62; found: 1092.34.

E.A. calculated for C₇₂H₄₉N₇OZn + 1/2 CH₂Cl₂ + 1/2 H₂O: C 76.55, H 4.41, N 8.64; found: C 76.47, H 4.75, N 8.10.

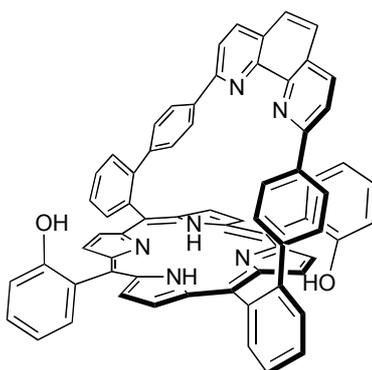
Porphyrin 52



Porphyrin 52 was prepared according to the procedure described for the synthesis of **48** from the following: dibromo-**Porphen 8** (100 mg, 0.1 mmol), 2-methoxyphenylboronic acid (80 mg, 0.53 mmol), K₂CO₃ (145 mg, 1.05 mmol) and Pd(PPh₃)₄ (12 mg, 0.01 mmol). A mixture of atropoisomers of the desired product **52** (85 mg, 0.08 mmol, 85%) was obtained as a purple solid.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 8.69 (s, 8H, H _{β}), 8.65 (d, 2H, J = 8.0 Hz, H_d), 8.40 (dd, 2H, J = 7.4 Hz and 1.7 Hz, H_h), 7.96 (d, 2H, J = 8.5 Hz, H_{4,7}), 7.84-7.91 (m, 4H, H_{a, b}), 7.79 (td, 2H, J = 7.2 Hz and 1.9 Hz, H_c), 7.66 (ddd, 2H, J = 8.3 Hz, 7.6 Hz and 1.8 Hz, H_f), 7.54 (d, 2H, J = 8.6 Hz, H_{3,8}), 7.50 (s, 2H, H_{5,6}), 7.30 (t, 2H, J = 7.4 Hz, H_g), 7.17 (d, 2H, J = 8.0 Hz, H_e), 6.82 (d, 4H, J = 8.4 Hz, H_o), 6.57 (d, 4H, J = 8.4 Hz, H_m), 3.39 (s, 6H, CH₃), -2.34 (s, 2H, NH).

UV-Visible in CH₂Cl₂: λ nm (ϵ in M⁻¹cm⁻¹): 286 (70175), 425 (310776), 520 (15413), 554 (5338), 595 (4887), 651 (2406).

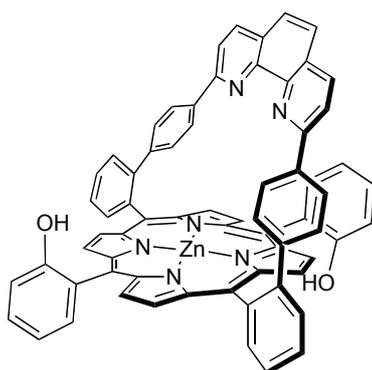
Porphyrin 53

Porphyrin 53 was prepared according to the procedure described for the synthesis of **49** from the following: **52** (180 mg, 0.18 mmol), boron tribromide (0.17 mL, 1.80 mmol). A mixture of atropoisomers of the desired product **45** (160 mg, 0.16 mmol, 91%) was obtained as a purple solid.

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) confirmed the absence of the methoxy groups at $\delta = 3.38$ ppm.

UV-Visible in CH_2Cl_2 : λ nm (ϵ in $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$): 281 (77368), 425 (326053), 520 (18000), 555 (5816), 594 (5737), 650 (2500).

MS (ESI-MS): exact mass calculated for $\text{C}_{68}\text{H}_{42}\text{N}_6\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: $m/z = 975.34$; found: 975.35.

Porphyrin [53Zn^{II}]

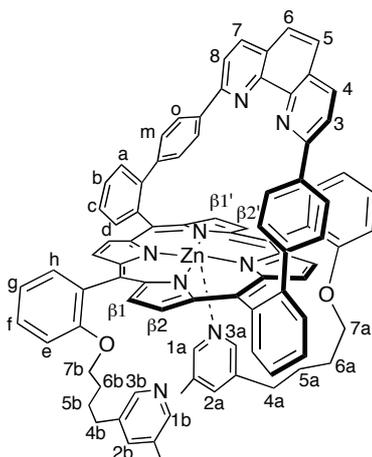
Porphyrin [53Zn^{II}] was prepared according to the procedure described for the synthesis of **[49Zn^{II}]** from the following: **53** (140 mg, 0.14 mmol), $\text{Zn}(\text{Cl})_2$ (380 mg, 2.80 mmol). A mixture of atropoisomers of the desired product **[53Zn^{II}]** (140 mg, 0.13 mmol, 96%) was obtained as a purple solid.

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) confirmed the absence of the -NH groups at $\delta = -2.34$ ppm.

UV-Visible in CH₂Cl₂: λ nm (ϵ in M⁻¹cm⁻¹): 284 (70333), 312 (72000), 434 (283000), 564 (15633), 605 (5366), 634 (4433).

MS (ESI-MS): exact mass calculated for C₆₈H₄₀N₆O₂Zn [M+H]⁺: m/z = 1038.26; found: 1038.49.

Porphyrin [54Zn^{II}]



Porphyrin [54Zn^{II}] was prepared according to the procedure described for the synthesis of **[50Zn^{II}]** from the following: **[53Zn^{II}]** (140 mg, 0.13 mmol), **pyridine 46** (82 mg, 0.33 mmol), K₂CO₃ (90 mg, 0.65 mmol) and 18-crown-6 (catalytic amount: 2.03 mg, ca 1 μ mol). A mixture of atropoisomers of the desired product **[54Zn^{II}]** (80 mg, 0.06 mmol, 45%) was obtained as a green solid.

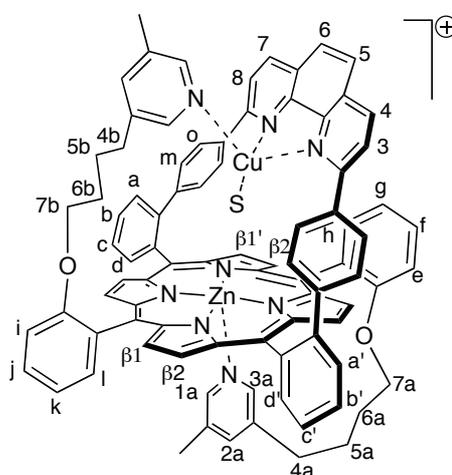
¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ = 8.73 (d, 2H, J = 4.5 Hz, H β_1), 8.68 (d, 2H, J = 4.5 Hz, H β_2), 8.64 (d, 2H, J = 4 Hz, H β_1'), 8.61 (d, 2H, J = 4 Hz, H β_2'), 8.42 (d, 2H, J = 8 Hz, H_d), 8.34 (d, 2H, J = 6.5 Hz, H_h), 8.12 (broad s, 1H, H_{1b}), 7.98 (d, 2H, J = 8.5 Hz, H_{4,7}), 7.85 (t, 2H, J = 7.5 Hz, H_b), 7.81 (d, 2H, J = 7.5 Hz, H_a), 6.70 (t, 2H, J = 6.5 Hz, H_c), 7.62 (m, 2H, H_f), 7.54 (d, 2H, J = 8.5 Hz, H_{3,8}), 7.51 (broad s, 3H, H_{5,6}, H_{3b}), 7.21 (t, 2H, J = 7.5 Hz, H_g), 7.05 (d, 2H, J = 8 Hz, H_e), 6.81 (d, 4H, J = 8 Hz, H_o), 6.55 (d, 4H, J = 8 Hz, H_m), 6.14 (broad s, 1H, H_{2b}), 5.96 (broad s, 1H, H_{2a}), 3.69 (m, 4H, H_{7a,7b}), 2.52 (broad s, 1H, H_{3a}), 2.48 (broad s, 1H, H_{1a}), 1.98 (s, 3H, CH_{3b}), 1.41 (broad s, 2H, H_{4a}), 1.02 (s, 3H, CH_{3a}), 0.72 (broad s, 2H, H_{6a}), 0.48 (broad s, 2H, H_{6b}), 0.4 (t, 2H, J = 7.5 Hz, H_{5a}).

UV-Visible in CH_2Cl_2 : λ nm (ϵ in $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$): 289 (90000), 436 (526666), 569 (22533), 608 (8966).

MS (ESI-MS): exact mass calculated for $\text{C}_{88}\text{H}_{66}\text{N}_8\text{O}_2\text{Zn}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: $m/z = 1033.93$; found: 1033.47.

E.A. calculated for $\text{C}_{88}\text{H}_{66}\text{N}_8\text{O}_2\text{Zn} + 1/2 \text{CH}_2\text{Cl}_2 + \text{H}_2\text{O}$: C 76.28, H 4.99, N 8.04; found: C 76.51, H 5.03, N 8.04.

Porphyrin $[\text{54Zn}^{\text{II}}\text{Cu}^{\text{I}}]^+$

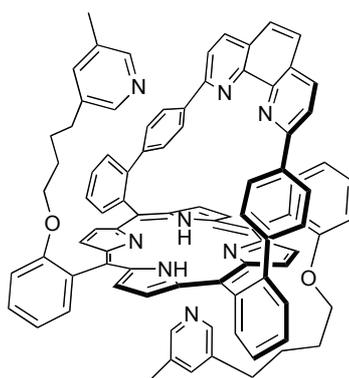


Porphyrin $[\text{54Zn}^{\text{II}}\text{Cu}^{\text{I}}]^+$ was obtained *in situ* by addition of $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4\text{PF}_6$ in CH_3CN to an argon degassed solution of **$[\text{54Zn}^{\text{II}}]$** in CH_2Cl_2 under argon.

^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz): $\delta = 8.45\text{-}8.56$ (m, 8H, H_β), 8.37 (d, 1H, $J = 7.5$ Hz, H_d), 8.32 (d, 1H, $J = 7$ Hz, $\text{H}_{d'}$), 8.10 (d, 2H, $J = 8$ Hz, $\text{H}_{4,7}$), 7.90 (d, 1H, $J = 7.5$ Hz, H_h), 7.86 (d, 1H, $J = 7.5$ Hz, H_i), 7.72 (m, 2H, $\text{H}_{b,b'}$), 7.62 (m, 2H, $\text{H}_{c,c'}$), 7.57 (broad s, 4H, $\text{H}_{a,a'}$, $\text{H}_{5,6}$), 7.53 (d, 4H, $J = 8$ Hz, $\text{H}_{3,8}$), 7.47 (m, 2H, $\text{H}_{f,j}$), 7.09 (m, 2H, $\text{H}_{g,k}$), 7.02 (d, 1H, $J = 8$ Hz, H_i), 6.96 (d, 1H, $J = 8$ Hz, H_e), 6.26 (broad s, 8H, $\text{H}_{o,m}$), 5.81 (broad s, 1H, H_{2a}), 3.52 (t, 4H, $J = 6.5$ Hz, $\text{H}_{7a,7b}$), 1.31 (t, 2H, $J = 6.5$ Hz, H_{4b}), 1.26 (t, 2H, $J = 6.5$ Hz, H_{4a}), 0.87 (s, 3H, CH_3a), 0.69 (t, 2H, $J = 7$ Hz, H_{5a}), 0.50 (t, 2H, $J = 6.5$ Hz, H_{5b}), 0.38 (broad s, 2H, H_{6b}), 0.24 (broad s, 2H, H_{6a}).

UV-Visible in CH_2Cl_2 : λ nm (ϵ in $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$): 271 (50000), 424 (128491), 547 (8240).

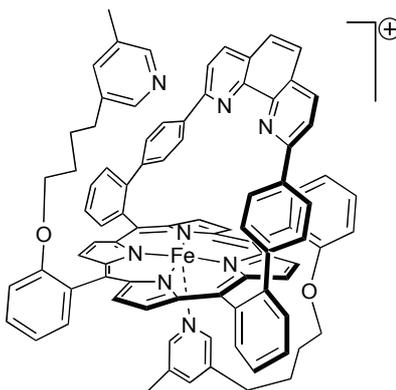
MS (ESI-MS): exact mass calculated for $\text{C}_{88}\text{H}_{66}\text{CuN}_8\text{O}_2\text{Zn}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: $m/z = 1394.39$; found: 1394.41.

Porphyrin 56

CF₃COOH (1.0 m) was added to a solution of **porphyrin [54Zn^{II}]** (0.05 mmol, 70 mg) in CH₂Cl₂. The mixture was stirred for 1 h and then washed twice with 40 mL of 2 M K₂CO₃ (aq), once with water and dried over Na₂SO₄. Filtration and evaporation of the solvent afforded the **porphyrin 56** in quantitative yield.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) confirmed the presence of the -NH groups at $\delta = -2.38$ ppm.

UV-Visible in CH₂Cl₂: λ nm (ϵ in M⁻¹cm⁻¹): 279 (41269), 426 (161904), 520 (7174), 557 (3047), 597 (2222), 651 (952).

Porphyrin [54Fe^{III}]⁺

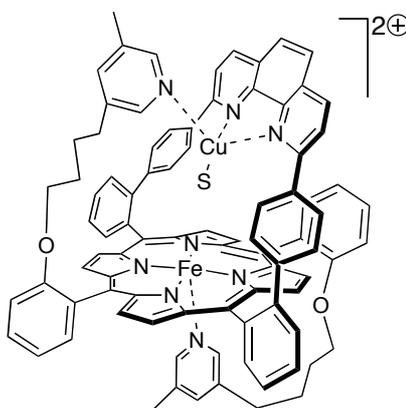
To a solution of **56** (64 mg, 0.05 mmol) in 15 mL of degassed THF, 2,6-lutidine (0.11 mL, 1 mmol) was added and the dark solution was refluxed for 15 min under argon. Anhydrous FeCl₂ (64 mg, 0.5 mmol) was added and the mixture was refluxed overnight. The mixture was cooled to room temperature and then exposed to air to achieve complete oxidation into the Fe^{III} complex. The THF was removed and the residue was dissolved in CH₂Cl₂. Column

chromatography (silica, CH₂Cl₂) provided a brown-orange solid, which was dried under high vacuum. The product was then dissolved in 15 mL of CHCl₃ and HCl gas was bubbled into the stirred solution for 5 min. The solvent was evaporated and the iron complex was dried under high vacuum to afford **[54Fe^{III}]⁺** in quantitative yield.

UV-Visible in CH₂Cl: λ nm (ϵ in M⁻¹cm⁻¹): 278 (45033), 428 (79139), 512 (8940).

HR-MS (ESI-MS): exact mass calculated for C₈₈H₆₆FeN₈O₂ [M+H]⁺: m/z = 1322.466; found: 1322.462.

Porphyrin [54Fe^{III}Cu^I]²⁺



Porphyrin [54Fe^{III}Cu^I]²⁺ was obtained *in situ* by addition of Cu(CH₃CN)₄PF₆ in CH₃CN to an argon flushed solution of **[54Fe^{III}]⁺** in CH₂Cl₂.

UV-Visible in CH₂Cl₂: λ nm (ϵ in M⁻¹.cm⁻¹): 321 (47350), 421 (71523), 532 (7947).

BIBLIOGRAPHIE

Références bibliographiques

- [1] Lippard, S. J.; Berg J. M. *Principes de chimie bioinorganique* **1997**, Ed. DeBoeck Université.
- [2] Lombardi A.; Natri F.; Pavone V. *Acc. Chem.* **2001**, *101*, 3165.
- [3] Green, M. T. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2009**, *13*, 84.
- [4] Berry, S. M.; Lu, Y. *Protein Structure Design and Engineering, Encyclopedia of Life Science* **2011**, John Wiley & Sons, Ltd : Chichester. DOI : 10.1002/9780470015902.a0002983.pub2
- [5] Lu, Y. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 5588.
- [6] Lu, Y.; Yeung, N.; Sieracki, N.; Marshall, N. M. *Nature* **2009**, *460*, 855.
- [7] DeGrado, W. F.; Summa, C. M.; Pavone, V.; Natri, F.; Lombardi, A. *Annu. Rev. Biochem.* **1999**, *68*, 779.
- [8] Kalsbeck, W. A.; Robertson, D. E.; Pandey, R. K.; Smith, K. M.; Dutton, P. L.; Bocian, D. F. *Biochemistry* **1996**, *35*, 3429.
- [9] Robertson, D. E.; Farid, R. S.; Moser, C. C.; Urbauer, J. L.; Mullholand, S. E.; Pidikiti, R.; Lear, J. D.; Wand, A. J.; DeGrado, W. F.; Dutton, P. L. *Nature* **1994**, *368*, 425.
- [10] Zhuang, J.; Amoroso, J. H.; Kinloch, R.; Dawson, J. H.; Baldwin, M. J.; Gibney, B. R. *Inorg. Chem.* **2004**, *43*, 8218.
- [11] Koder, L. R.; Ross Anderson, J. L.; Solomon, L. A.; Reddy, K.S.; Moser, C. C.; Dutton, P. L. *Nature* **2009**, *458*, 305.
- [12] a) Natri, F.; Lombardi, A.; Morelli, G.; Maglio, O.; D'Auria, G.; Pedone, C.; Pavone, V. *Chem. Eur. J.* **1997**, *3*, 340. b) Natri, F.; Lista, L.; Ringhieri, P.; Vitale, R.; Faiella, M.; Andreozzi, C.; Travascio, P.; Lombardi, A.; Maglio, O.; Pavone, V. *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 4444.
- [13] Sigman, J. A.; Kwok, B. C.; Lu, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 8192.
- [14] Watanabe, Y.; Nakajima, H.; Ueno, T. *Acc. Chem. Res.* **2007**, *40*, 554.
- [15] Holm, R. H.; Solomon, E. I. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 347.
- [16] Mansuy, D.; Battioni, P. *Bioinorganic Catalysis* **1999**, Ed. Jan Reedijk et Elisabeth Bouwman, CRC Press.
- [17] Wilson, M. T.; Reeder, B. J. *Exp. Physiol.* **2007**, *93*, 128.
- [18] Collman, J.-P.; Boulatov, R.; Sunderland, C. J.; Fu, L. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 561.
- [19] a) Kendrew, J. C.; Bodo, G.; Dintzis, H. M.; Parrish, R. G.; Wyckoff, H. W.; Phillips, D. C. *Nature* **1958**, *181*, 662. b) Perutz, M. F.; Rossmann, M. G.; Cullis, A. F.; Muirhead, H.; Will, G.; North, A. C. T. *Nature* **1960**, *185*, 416.

- [20] Pauling, L. *Nature* **1964**, *203*, 182.
- [21] Griffith, J. S. *Proc. Roy. Soc. Ser. A* **1956**, *235*, 23.
- [22] Collman, J. P.; Gagne, R. R.; Reed, C. A.; Robinson, W. T.; Rodley, G. A. *Proc. Nat. Acad. Sci.* **1974**, *71*, 1326.
- [23] Collman, J. P.; Brauman, J. I.; Halbert, T. R.; Suslick, K. S. *Proc. Nat. Acad. Sci.* **1976**, *73*, 3333.
- [24] a) Peng, S. M.; Ibers, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98*, 8032. b) Ray, G. B.; Li, X. Y.; Ibers, J. A.; Sessler, J. A.; Spiro, T. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 162.
- [25] Norvell, J. C.; Nunes, A. C.; Schoenborn, B. P. *Science* **1975**, *190*, 568.
- [26] Perutz, M. F. *Annu. Rev. Biochem.* **1979**, *48*, 327.
- [27] Miura, S., Ho, C. *Biochem.* **1984**, *23*, 2492.
- [28] Momenteau, M.; Reed, C. A. *Chem. Rev.* **1994**, *94*, 659.
- [29] Hoffman, A. B.; Collins, D. M.; Day, V. W.; Fleischer, E. B.; Srivastava, T. S.; Hoard, J. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 3620.
- [30] a) Collman, J. P.; Gagne, R. R.; Halbert, T. R.; Marchon, J. C.; Reed, C. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 7868. b) Collman, J. P.; Gagne, R. R.; Halbert, T. R.; Reed, C. A.; Lang, G.; Robinson, W. T. *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97*, 1427.
- [31] Collman, J. P.; Brauman, J. I.; Doxsee, K. M.; Halbert, T. M.; Suslick, K. S. *Proc. Nat. Acad. Sci.* **1978**, *75*, 564.
- [32] Collman, J. P.; Brauman, J. I.; Rose, E.; Suslick, K. S. *Proc. Nat. Acad. Sci.* **1978**, *75*, 1052.
- [33] Collman, J. P.; Brauman, J. I.; Doxsee, K. M.; Halbert, T. R.; Bunnenberg, E.; Linder, R. E.; LaMar, G. N.; Del Gaudio, J.; Lang, G.; Spartalian, K. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 4182.
- [34] Collman, J. P.; Brauman, J. I.; Doxsee, K. M. *Proc. Nat. Acad. Sci.* **1979**, *76*, 6035.
- [35] a) Momenteau, M.; Mispelter, J.; Loock, B.; Bisagni, E. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* , **1983**, 189. b) Momenteau, M.; Mispelter, J.; Loock, B.; Lhoste, J.-M. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* , **1985**, 61.
- [36] a) Momenteau, M.; Mispelter, J.; Loock, B.; Lhoste, J.-M. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* , **1985**, 221. b) Momenteau, M.; Mispelter, J.; Loock, B.; Lhoste, J.-M. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1988**, 283. c) Maillard, P.; Schaeffer, C.; Huel C.; Lhoste, J.-M.; Momenteau, M. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1988**, 3285.
- [37] Lavalette, D.; Momenteau, M. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1982**, 341.
- [38] Lavalette, D.; Tetreau, C.; Mispelter, J.; Momenteau, M.; Lhoste, J.-M. *Eur. J. Biochem.* **1984**, *145*, 555.

- [39] Tsuchida, E.; Sou, K.; Nakagawa, A.; Sakai, H.; Komatsu, T.; Kobayashi, K. *Bioconjugate Chem.* **2009**, *20*, 1419.
- [40] Wang, R.-M.; Komatsu, T.; Nakagawa, A.; Tsuchida, E. *Bioconjugate Chem.* **2005**, *16*, 23.
- [41] a) Tsuchida, E.; Komatsu, T.; Matsukawa, Y.; Hamamatsu, K.; Wu J. *Bioconjugate Chem.* **1999**, *10*, 797. b) Komatsu, T.; Matsukawa, Y.; Tsuchida, E. *Bioconjugate Chem.* **2002**, *13*, 397.
- [42] Nakagawa, A.; Komatsu, T.; Iizuka, M.; Tsuchida, E. *Bioconjugate Chem.* **2008**, *19*, 581.
- [43] Huang, Y.; Komatsu, T.; Nakagawa, A.; Tsuchida, E.; Kobayashi, S. *J. Biomed. Mater. Res.* **2002**, *66A*, 292.
- [44] Ortiz de Montellano, P. R. *Cytochrome P450 : structure, mechanism and biochemistry* **1995**, Ed. Plenum, New York.
- [45] Omura, T., Sato, R. *J. Bio. Chem.* **1964**, 239, 2370.
- [46] <http://drnelson.uthsc.edu/CytochromeP450.html>
- [47] Poulos, T. L.; Finzel, B. C.; Gunsalus, I. C.; Wagner, G. C.; Kraut, J. *J. Bio. Chem.* **1985**, *260*, 16122.
- [48] Williams, P. A.; Cosme, J.; Sridhar, V.; Johnson, E. F.; McRee, D. E. *Mol. Cell.* **2000**, *5*, 121.
- [49] Johnson, F. E.; Stout, C. D. *Biochem. Biophys. Chem. Commun.* **2005**, 338, 331.
- [50] Mansuy, D. *C. R. Chimie* **2007**, *10*, 392.
- [51] a) Wester, M. R.; Johnson, E. F.; Marques-Soares, C.; Dansette, P. M.; Mansuy, D.; Stout, C. D. *Biochemistry* **2003**, *42*, 6370. b) Wester, M. R.; Johnson, E. F.; Marques-Soares, C.; Dijols, S.; Dansette, P. M.; Mansuy, D.; Stout, C. D. *Biochemistry* **2003**, *42*, 9335.
- [52] Hamdane, D.; Zhang, H.; Hollenberg, P. *Photosynth. Res.* **2008**, *98*, 657.
- [53] Meunier, B.; de Visser, S. P.; Shaik, S. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 3947.
- [54] Sono, M.; Roach, M. P.; Coulter, E. D.; Dawson, J. H. *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 2841.
- [55] a) Groves, J. T.; Nemo, T. E.; Myers, R. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 1032. b) Groves, J. T.; Nemo, T. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 5786.
- [56] Groves, J. T.; Nemo, T. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 5791.
- [57] Collman, J. P.; Wang, Z.; Straumanis, A.; Quelquejeu, M.; Rose, E. *J. Am. Chem. Soc.*, **1999** *121*, 460.
- [58] Rose, E.; Quelquejeu, M.; Lecas-Nawrocka, A.; Vilar, A.; Ricart, G.; Collman, J. P.; Straumanis, A. *Polyhedron* **2000**, *19*, 581.
- [59] Rose, E.; Ren, Q.-I.; Andrioletti, B. *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 224.
- [60] a) Kozuch, S.; Leifels, T.; Meyer, D.; Sbaragli, L.; Shaik, S.; Woggon, W.-D. *Synlett* **2005**,

- 4, 675. b) Woggon, W.-D. *Acc. Chem. Res.* **2005**, *38*, 127.
- [61] Poulos, T. L. *J. Bio. Inorg. Chem.* **1996**, *1*, 356.
- [62] a) Meyer, D.; Leifels, T.; Sbaragli, L.; Woggon, W.-D. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **2005**, *338*, 372. b) Sbaragli, L.; Woggon, W.-D. *Synthesis* **2005**, *9*, 1538.
- [63] a) Iwata, S.; Ostermeier, C.; Ludwig, B.; Michel, H. *Nature* **1995**, *376*, 660. b) Tsukihara, T.; Aoyama, H.; Yamashita, E.; Tomizaki, T.; Yamaguchi, H.; Shinzawa-Itoh, K.; Nakashima, R.; Yaono, R.; Yoshikawa, S. *Science* **1995**, *269*, 1069.
- [64] Yoshikawa, S.; Shinzawa-Itoh, K.; Nakashima, R.; Yaono, R.; Yamashita, E.; Inoue, N., K.; Yao, M.; Fei, M.; Libeu, C. P.; Mizushima, T.; Yamaguchi, H.; Tomizaki, T.; Tsukihara, T. *Science* **1998**, *280*, 1723.
- [65] Tsukihara, T.; Shimokata, K.; Katayama, Y.; Shimada, H.; Muramoto, K.; Aoyama, H.; Mochizuki, M.; Shinzawa-Itoh, K.; Yamashita, E.; Yao, M.; Ishimura, Y.; Yoshikawa, S. *Proc. Nat. Acad. Sci.* **2003**, *100*, 15304.
- [66] Kim, E.; Chufan, E. E.; Kamaraj, K.; Karlin, K. D. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 1077.
- [67] Collman, J. P.; Herrmann, P. C.; Boitrel, B.; Zhang, X.; Eberspacher, T. A.; Fu, L. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 9783.
- [68] Collman, J.P. *Inorg. Chem.* **1997**, *36*, 5145.
- [69] Collman, J. P.; Fu, L.; Herrmann, P. C.; Wang, Z.; Rapta, M.; Bröring, M.; Schwenniger, R.; Boitrel, B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 3397.
- [70] a) Ricard, D.; Andrioletti, B.; L'Her, M.; Boitrel, B. *Chem. Commun.* **1999**, 1523. b) Ricard, D.; Didier, A.; L'Her, M.; Boitrel, B. *C. R. Chimie* **2002**, *5*, 33.
- [71] Collman, J. P.; Decréau, R. A.; Yoon, J.; Solomon, E. I. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 5794.
- [72] Collman, J. P.; Ghosh, S.; Dey, A.; Decréau, R. A.; Yang, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 5034.
- [73] Charalambidis, G.; Ladomenou, K.; Boitrel, B.; Coutselos, A. G. *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, *8*, 1263.
- [74] Wytko, J. A.; Graf, E.; Weiss, J. *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 1015.
- [75] Collman, J. P.; Lee, V. G.; Zhang, X.; Ibers, J. A.; Brauman, J. I. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 3834.
- [76] Collman, J. P.; Zhang, X.; Hembre, R. T.; Brauman, J. I. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 5356.
- [77] a) Melin, F.; Choua, S.; Bernard, M.; Turek, P.; Weiss, J. *Inorg. Chem.* **2006**, *45*, 10750. b) Melin, F.; Boudon, C.; Lo, M.; Schenk, K. J.; Bonin, M.; Ochsenbein, P.; Gross, M.; Weiss, J. *J.*

Porphyrins Phthalocyanines **2007**, *11*, 212.

[78] Lo, M.; Mahajan, D.; Wytko, J. A.; Boudon, C.; Weiss, J. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 2487.

[79] Melin, F. *Thèse ULP Strasbourg* **2005**.

[80] Lo, M. *Thèse UDS Strasbourg* **2009**.

[81] Kadish, K. M.; Smith, K. M.; Guillard, R. *Porphyrin Handbook* **2000**, Academic Press.

[82] Cullen, D. L.; Meyer, E. F.; Smith, K. M. *Inorg. Chem.* **1977**, *16*, 1179.

[83] Scheidt, W. R.; Lee, Y. J. *In Structure and Bonding* **1987**, *64*, 1.

[84] Kadish, K. M.; Smith, K. M.; Guillard, R. *Porphyrin Handbook* **2000**, *5*, 1, Academic Press.

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

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

[86] Wang, Q. M.; Bruce, W. D. *Synlett* **1995**, *12*, 1267.

[87] Froideveaux, J. *Thèse ULP Strasbourg* **1998**.

[88] Froideveaux, J.; Ochsenbein, P.; Bonin, M.; Schnek, K.; Maltese, P.; Gisselbrecht, J.-P.;

Weiss, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 12362.

[89] Cavaleiro, J. A. S.; Tomé, A. C.; Neves, M. G. P. M. S. *Handbook of Porphyrin Science* **2010**, *2*, 209, World Scientific.

[90] Dharam, P.; Melin, F.; Hirtz, C.; Wytko, J. A.; Ochsenbein, P.; Bonin, M.; Schenk, K.; Weiss, J. *Inorg. Chem.* **2003**, *42*, 3779.

[91] DiMagno, S. G.; Lin, V. S. Y.; Therien, M. J. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 5983.

[92] Suzuki, A. *Journal of Organomet. Chem.* **1999**, *576*, 147.

[93] Brandel, J.; Trabolsi, A.; Melin, F.; Elhabiri, M.; Weiss, J.; Albrecht-Gary, A-M. *Inorg. Chem.* **2007**, *46*, 9534–9536

[94] Lutz, R. P. *Chem. Rev.* **1984**, *84*, 205.

[95] Stäubli B.; Fretz H.; Piantini U.; Woggon W. D. *Helv. Chim. Acta* **1987**, *70*, 1173.

[96] Ito, F.; Fusegi, K.; Kumamoto, T.; Ishikawa, T. *Synthesis* **2007**, *12*, 1785.

[97] Newman, M. S., Karnes, H. A. *J. Org. Chem.* **1966**, *31*, 3980.

[98] Hooz, J.; Gilani, S. S. *Can. J. Chem.* **1968**, *46*, 86.

[99] a) Zebovitz, T. C.; Heck, R. F. *J. Org. Chem.* **1977**, *42*, 3907, b) Ziegler, C. B.; Heck, R. F. *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 2941.

[100] Chambron, J.-C.; Sauvage, J.-P. *Tetrahedron* **1987**, *43*, 895.

[101] Miyashita, N.; Yoshikoshi, A.; Grieco, P. A. *J. Org. Chem.* **1977**, *42*, 3772.

[102] Sonogashira, K.; Tohda, Y.; Hagihara, N. *Tetrahedron Lett.* **1975**, *16*, 4467.

[103] Singh, S.; Das, G.; Singh, O. V.; Han H. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 1983.

- [104] Lee, C-H., Lindsey, J. S., *Tetrahedron*, **1994**, *50*, 11427.
- [105] Couture, A.; Deniau, E.; Grandclaudeon, P.; Hoarau, C. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 3128.
- [106] Gerbino, D. C.; Mandolesi, S. D.; Schmalz, H.-G.; Podestà, J. C. *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, *23*, 3964.
- [107] Dirks, J. W.; Underwood, G.; Matheson, J. C.; Gust, D. *J. Org. Chem.* **1979**, *44*, 2551.
- [108] Günther, H. *La spectroscopie de RMN* **1994**, Ed Masson.
- [109] Weyermann, P.; Gisselbrecht, J-P.; Boudon, C.; Gross, M.; Diederich, F. *Helv. Chim. Acta* **2002**, *85*, 571.
- [110] La Mar, G. N.; Satterlee, J. D.; De Ropp, J. S. *The Porphyrin Handbook* **2000**, *5*, 212, Academic Press.
- [111] Tang, S. C.; Koch, S., Papaefthymiou, G. C.; Foner, S., Frankel, R. B.; Ibers J. A.; Holm, R. H. *J. Am. Chem. Soc.*, **1976**, *98*, 2414.
- [112] Walker, F. A.; Man-Wai, L.; Ree, M. T. *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98*, 5552.
- [113] a) Yatsunyk, L. A.; Walker, F. A. *Inorg. Chem.* **2004**, *43*, 757, b) Walker, F. A.; Reis, D.; Balke, V. L. *J. Am. Chem. Soc.*, **1984**, *106*, 6888.
- [114] Ruzié, C. *Thèse Université Rennes I* **2005**.
- [115] Behere, D. V.; Birdy, R.; Mitra, S. *Inorg. Chem.* **1982**, *21*, 386.
- [116] Boyd, P. D. W.; Buckingham, D. A.; McMeeking, R. F.; Mitra, S. *Inorg. Chem.* **1979**, *18*, 3585.
- [117] Goff, H.; La Mar, G. N. *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 6599.
- [118] Walker, A. F. *Handbook of Porphyrin Science* **2010**, *6*, 84, World Scientific.
- [119] Colin, N.; McCash, B.; McCash, E. M. *Fundamentals of molecular spectroscopy* **1994**, Ed McGraw-Hill.
- [120] Spiro, T. G. *Proc. R. Soc. Lond. A* **1975**, *345*, 89.
- [121] Spiro, T. G.; Strakas, T. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, *96*, 338.
- [122] Stein, P.; Burke, J. M.; Spiro, T. G. *J. Am. Chem. Soc.*, **1975**, *97*, 2304.
- [123] Spiro, T. G.; Burke, J. M. *J. Am. Chem. Soc.*, **1976**, *98*, 5482.
- [124] Burke, J. M.; Kincaid, J. R.; Peters, S.; Gagne, R. R.; Collman, J. P.; Spiro, T. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100*, 6083.
- [125] Hellwig, P.; Melin, F. *Handbook of Porphyrin Science* **2010**, *7*, 437, World Scientific.
- [126] Kozłowski, P. M.; Spiro, T. G. *J. Phys. Chem. B* **1998**, *102*, 2603.
- [127] Lim, M.; Jackson, T. A.; Anfinrud, P. A. *Science* **1995**, *269*, 925.
- [128] a) Barlow, C. H.; Ohlsson, P.-I.; Paul, K.-G. *Biochemistry* **1976**, *15*, 2225, b) Yoshikawa,

- S.; Choc, M. G.; O'Toole, M. C.; Caughey, W. S. *J. Biol. Chem* **1977**, *252*, 5498.
- [129] Collman, J. P.; Brauman, J. I.; Halbert, T. R.; Suslick, K. S. *Proc. Nat. Acad. Sci* **1976**, *73*, 3333.
- [130] a) Alben, J. O.; Caughey, W.S. *Biochemistry* **1968**, *7*, 175, b) Silvernail, N. J.; Roth, R.; Schulz, C. E.; Noll, B. C.; Scheidt, W. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 14422.
- [131] Collman, J. P.; Sunderland, C. J.; Boulatov, R. *Inorg. Chem.* **2002**, *41*, 2282.
- [132] Collman, J. P.; Boulatov, R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 3487.
- [133] Bottomley, L. A.; Kadish, K. M. *Inorg. Chem.* **1981**, *20*, 1348.
- [134] a) Collman, J. P.; Rapta, M.; Bröring, M.; Raptova, L.; Schwenniger, R.; Boitrel, B.; Fu, L.; L'Her, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 1387, b) Collman, J. P.; Schwenniger, R.; Raptova, L.; Bröring, M.; Fu, L. *Chem. Commun.* **1999**, *2*, 137.
- [135] Matsuo, T.; Dejima, H.; Hirota, S.; Murata, D.; Sato, H.; Ikegami, T.; Hori, H.; Hisaeda, Y.; Hayashi, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 16007.
- [136] a) Kitagishi, H.; Tamaki, M.; Ueda, T.; Hirota, S.; Ohta, T.; Naruta, Y.; Kano, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 16730, b) Kitagishi, H.; Negi, S.; Kiriya, A.; Honbo, A.; Sugiura, Y.; Kano, K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 1312.
- [137] Malatesia, L.; Angoletta, M. *J. Chem. Soc.* **1957**, 1186.

PARTIE ANNEXE

I Liste des figures

Figure 1 : protoporphyrine IX de fer(II).

Figure 2 : représentation schématique de (a) la maquette de cytochrome b et (b) d'une variante dihémiq.

Figure 3 : conformations du mimochrome, isomère λ à gauche et isomère δ à droite.

Figure 4 : (a) Superposition d'une structure cristallographique d'un CcO de coeur de boeuf (fin) et de la modélisation de Cu_BMb (épais) (b) Superposition d'une structure cristallographique de WTswMb (fin) et de la modélisation de Cu_BMb (épais).

Figure 5 : structure générale de la myoglobine (gauche) (PDB 1MBN). Agrandissement du site actif (droite).

Figure 6 : représentations de la coordination de O₂ et de CO.

Figure 7 : Structure de l'hémoglobine humaine. Les sous-unités α sont en rouge et les β en bleu. Les hèmes sont représentés en vert (PDB 1GZX).

Figure 8 : courbes d'oxygénation de la myoglobine et de l'hémoglobine.

Figure 9 : la « *picket-fence porphyrin* » de Collman.

Figure 10 : la « *tailed picket-fence porphyrin* » de Collman.

Figure 11 : porphyrines de type « *basket-handle* » avec groupements éther (gauche) et amido (droite).

Figure 12 : modèle de Tsuchida

Figure 13 : structure du cytochrome P450 (hème en rouge) ayant fixé une molécule de camphre (vert) (PDB 5CP4).

Figure 14 : quelques dates de découvertes de structures de cytochromes P450.

Figure 15 : premiers modèles de Groves.

Figure 16 : modèles à piquets.

Figure 17 : porphyrines siège de Rose.

Figure 18 : modèles de Woggon.

Figure 19 : structure générale de la cytochrome *c* oxydase de coeur de boeuf (gauche) où la sous-unité I est en jaune et la sous-unité II en verte (PDB 10CR). Agrandissement des centres rédox métalliques (droite).

Figure 20 : structure du site actif de la cytochrome *c* oxydase de coeur de boeuf (PDB 10CR).

Figure 21 : modèle à chapeau TACN avec une base exogène.

Figure 22 : modèles avec base axiale embarquée. Chapeau TACN à gauche, et TBTren à droite.

Figure 23 : modèle de Boitrel à chapeau Tren.

Figure 24 : modèle synthétique mimant la tyrosine.

Figure 25 : modèles de Boitrel avec l'hydroxy à gauche et le méthoxy à droite.

Figure 26 : structure cristallographique de la **Porphen** de zinc.

- Figure 27** : médèle cible du cytechreme P450.
- Figure 28** : médèle cible de myeglebine.
- Figure 29** : médèles du Dr Melin (à gauche) et du Dr Le (à droite).
- Figure 30** : médèle cible de cytechreme *c* oxydase.
- Figure 31** : A- électrons impliqués dans l'aromaticité ; B- porphyrine base libre ; C- métalléporphyrine.
- Figure 32** : deux exemples classiques de métalléporphyrines.
- Figure 33** : déformations possibles des porphyrines.
- Figure 34** : cône d'anisotropie magnétique d'une porphyrine.
- Figure 35** : synthèse de la Perphen 6.
- Figure 36** : structure du complexe bimétallique [Zn(II)-Perphen-Cu(I)(CH₃CN)₂]BF₄.⁸²
- Figure 37** : approche synthétique globale du cempesé 12 à partir de la Perphen 6.
- Figure 38** : synthèse de la dibrome-Perphen 8.
- Figure 39** : synthèse du cempesé 10.
- Figure 40** : synthèse du cempesé 12.
- Figure 41** : spectres RMN ¹H 300 MHz des cempesés 11 et 12 dans du CDCl₃ à 25 °C (* : résidus de solvant, ★ : résidus de diphenyle éther).
- Figure 42** : synthèse du cempesé *o,o'*-diallylphénel 17.
- Figure 43** : synthèse de l'anse soufrée 21.
- Figure 44** : synthèse du cempesé 22.
- Figure 45** : synthèse de l'anse pyridinique 27.
- Figure 46** : échec de la synthèse de [28Zn^{II}].
- Figure 47** : échec des synthèses de 30 et 31.
- Figure 48** : synthèse de 35.
- Figure 49** : synthèse de l'anse pyridinique 37.
- Figure 50** : nouveau médèle cible 38.
- Figure 51** : autre voie de synthèse de l'intermédiaire 10.
- Figure 52** : schéma réactionnel pour la synthèse de [38Zn^{II}].
- Figure 53** : synthèse de l'acide benénique 42.
- Figure 54** : synthèse de la porphyrine 44.
- Figure 55** : récapitulatif des médèles de cytechreme P450 envisagés.
- Figure 56** : synthèse du bras pyridinique 46.
- Figure 57** : synthèse de [50Zn^{II}].
- Figure 58** : chromatographie sur couche mince du mélange de 48 et de la première fraction après purification sur colonne.
- Figure 59** : spectre RMN ¹H 400 MHz de [50Zn^{II}] dans du CDCl₃ à 25°C (* : solvant).

Figure 60 : vers le composé $[51Zn^{II}]$.

Figure 61 : synthèse de la métalloporphyrine $[53Zn^{II}]$.

Figure 62 : synthèse de $[54Zn^{II}]$.

Figure 63 : structure des trois atropoisomères de $[54Zn^{II}]$.

Figure 64 : spectre RMN 1H d'un atropoisomère de $[54Zn^{II}]$ entre 8,8 et 6 ppm ($CDCl_3$, 0 °C, 500 MHz, * : solvant).

Figure 65 : spectre RMN 1H d'un atropoisomère de $[54Zn^{II}]$ entre 3,8 et 0,4 ppm ($CDCl_3$, 0 °C, 500 MHz).

Figure 66 : carte RMN ROESY (1H - 1H , 500 MHz) de $[54Zn^{II}]$ dans du $CDCl_3$ à 0 °C.

Figure 67 : agrandissement du rectangle bleu de la carte ROESY de $[54Zn^{II}]$.

Figure 68 : structure de l'atropoisomère isolé $\beta\beta[54Zn^{II}]$.

Figure 69 : spectre RMN 1H de $\beta\beta[54Zn^{II}]$ entre 9 et 5,8 ppm ($CDCl_3$, -60 °C, 500 MHz, * : solvant).

Figure 70 : spectre RMN 1H de $\beta\beta[54Zn^{II}]$ à entre 4 et 0 ppm ($CDCl_3$, -60 °C, 500 MHz).

Figure 71 : carte RMN ROESY (1H - 1H , 500 MHz) de $\beta\beta[54Zn^{II}]$ dans du $CDCl_3$ à -60 °C.

Figure 72 : agrandissement du rectangle noir de la carte ROESY à -60 °C de $\beta\beta[54Zn^{II}]$.

Figure 73 : carte RMN COSY (1H - 1H , 500 MHz) de $\beta\beta[54Zn^{II}]$ dans du $CDCl_3$ à -60 °C.

Figure 74 : agrandissement du rectangle bleu de la carte COSY à -60 °C de $\beta\beta[54Zn^{II}]$.

Figure 75 : agrandissement du rectangle noir de la carte COSY à -60 °C de $\beta\beta[54Zn^{II}]$.

Figure 76 : agrandissement du rectangle rouge de la carte COSY à -60 °C de $\beta\beta[54Zn^{II}]$.

Figure 77 : spectres RMN 1H de $\beta\beta[54Zn^{II}]$ entre -60 °C et 0 °C ($CDCl_3$, 500 MHz).

Figure 78 : agrandissement du rectangle rouge de la Figure 76.

Figure 79 : synthèse du composé $[54Zn^{II}Cu^I]^+$.

Figure 80 : profil isotopique mesuré et calculé du composé $[54Zn^{II}Cu^I]$.

Figure 81 : spectres RMN 1H de 5,8 à 8,7 ppm des composés $\beta\beta[54Zn^{II}]$ à -60 °C et $[54Zn^{II}Cu^I]$ à 50 °C dans le $CDCl_3$ (* : solvants).

Figure 82 : spectres RMN 1H de 0 à 4 ppm des composés $\beta\beta[54Zn^{II}]$ à -60 °C et $[54Zn^{II}Cu^I]^+$ à 50 °C dans le $CDCl_3$ (* : solvants).

Figure 83 : synthèse du complexe de fer $[54Fe^{III}]^+$.

Figure 84 : spectre de masse « electrospray » à haute résolution de $[54Fe^{III}]^+$.

Figure 85 : configurations électroniques possibles du fer(III) dans les systèmes biologiques.

Figure 86 : effet du champ magnétique sur un système de spin électronique $S = 1/2$.

Figure 87 : spectre RPE de $[54Fe^{III}]^+$ dans le dichlorométhane $C = 1,59 \cdot 10^{-4} M^{-1}$ à 6 K.

Figure 88 : ligands exogènes utilisés pour la coordination distale.

Figure 89 : dosage du complexe $[54Fe^{III}]^+$ par une solution d'imidazole dans le dichlorométhane.

Figure 90 : à gauche, spectre RPE de $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ (a) dans le dichlorométhane en présence d'un (b) et deux (c) équivalents d'imidazole à 6 K. A droite, agrandissement du spectre.

Figure 91 : dosage du complexe $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ par une solution de 2-méthylimidazole dans le dichlorométhane.

Figure 92 : à gauche, spectre RPE de $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ (a) dans le dichlorométhane en présence d'un (b) et deux (c) équivalents de 2-méthylimidazole à 6 K. A droite, agrandissement du spectre.

Figure 93 : dosage du complexe $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ par une solution de N-méthylimidazole dans le dichlorométhane.

Figure 94 : à gauche, spectre RPE de $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ (a) dans le dichlorométhane en présence d'un (b) et deux (c) équivalents de N-méthylimidazole à 6 K. A droite, agrandissement du spectre.

Figure 95 : dosage du complexe $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ par une solution de pyridine dans le dichlorométhane.

Figure 96 : graphique $\text{pK}_a = f(\log K)$ des différents ligands exogènes utilisés.

Figure 97 : formation de complexes [1-2] (L = imidazole, 2-méthylimidazole et N-méthylimidazole) pour le modèle du Dr M. Lo (à gauche) et de [1-1] pour le composé $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{III}}]^+$.

Figure 98 : états de spin d'une porphyrine de fer(II).

Figure 99 : cellule UV-Visible de type Schlenk.

Figure 100 : spectres UV-Visible de $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ et de $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{II}}]$ dans le dichlorométhane.

Figure 101 : étude de la fixation du dioxygène sur le complexe $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{II}}]$.

Figure 102 : spectre UV-Visible de la formation du complexe $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{III}}\underline{\text{Cu}}^{\text{I}}]^{2+}$ pour des ajouts de 0 à 1 équivalent.

Figure 103 : spectres RMN ^1H (300 MHz) de $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ (gauche) et de $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{II}}]$ (droite) dans le CDCl_3 .

Figure 104 : réduction du fer(III) en fer(II) du complexe du Dr M. Lo.

Figure 105 : spectre RMN ^1H (300 MHz) de $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{II}}]$ dans le CDCl_3 sous atmosphère de O_2 .

Figure 106 : spectre RMN ^1H (300 MHz) de $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{II}}]$ dans le CDCl_3 sous atmosphère de CO .

Figure 107 : spectre RMN ^1H (300 MHz) de $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{II}}\underline{\text{Cu}}^{\text{I}}]^+$ dans le CDCl_3 sous atmosphère de O_2 et de CO .

Figure 108 : transition électronique a) en spectroscopie Raman classique, b) en spectroscopie de résonance Raman.

Figure 109 : diagramme d'énergie simplifié.

Figure 110 : spectres Raman de $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{III}}]^+$, $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{III}}\underline{\text{Cu}}^{\text{I}}]^{2+}$, $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{II}}\underline{\text{Cu}}^{\text{I}}]^+$, et de $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{II}}\underline{\text{Cu}}^{\text{I}}]^+$ en présence de O_2 (ACN = acétonitrile et DCM = dichlorométhane).

Figure 111 : spectres infrarouge des complexes $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{II}}]$ et $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{II}}\underline{\text{Cu}}^{\text{I}}]^+$ en présence de CO .

Figure 112 : comparaison des spectres infrarouge des complexes fer et fer/cuivre du Dr M. Lo avec $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{II}}]$ et $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{II}}\underline{\text{Cu}}^{\text{I}}]^+$ en présence de CO .

Figure 113 : voltampérogrammes cycliques du complexe $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{III}}]^+$ dans le dichlorométhane (courbe noire) et en présence de O_2 (courbe rouge) ; référence interne Fc^+/Fc .

Figure 114 : voltampérogrammes cycliques du complexe $[\underline{54}\text{Fe}^{\text{III}}\underline{\text{Cu}}^{\text{I}}]^{2+}$ dans le dichlorométhane (courbe violette) et en présence de O_2 (courbe orange) ; référence interne Fc^+/Fc .

Figure 115 : voltampérogrammes cycliques du modèle du Dr M. Lo dans le dichlorométhane en présence d'imidazole (courbe orange), de $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4\text{PF}_6]$ (courbe violette), le complexe fer/cuivre résultant en présence de O_2 (courbe verte), suivi d'un dégazage (courbe noire) ; référence interne Fc^+/Fc .

Figure 116 : schéma d'une électrode rotative « disque-anneau » (RDE) et de son fonctionnement.¹⁸

Figure 117 : courants de disque et d'anneau d'une électrode disque-anneau tournante, modifiée sur le disque par l'adsorption de $[\text{54Fe}^{\text{III}}]^+$ (courbe rouge) et de $[\text{54Fe}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{I}}]^{2+}$ (courbe verte) en fonction du potentiel imposé au disque ; milieu : H_2O , $\text{pH} = 7$, saturé en O_2 , $N = 100 \text{ tours} \cdot \text{min}^{-1}$.

Figure 118 : modèle de reconstruction de myoglobine avec un hème artificiel.

Figure 119 : modèle de Kano à gauche et greffage d'un dimère de cyclodextrine sur un dérivé de Porphén à droite.

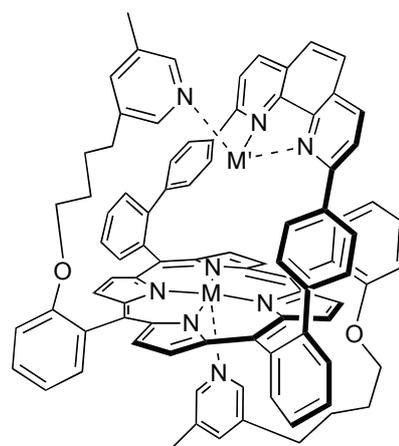
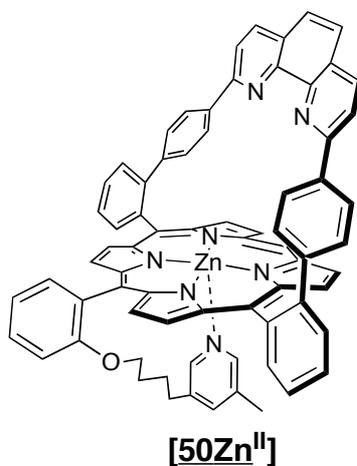
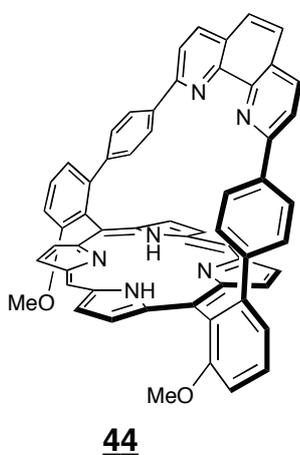
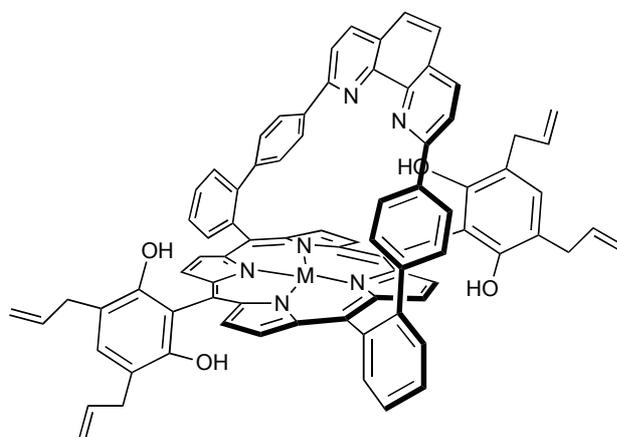
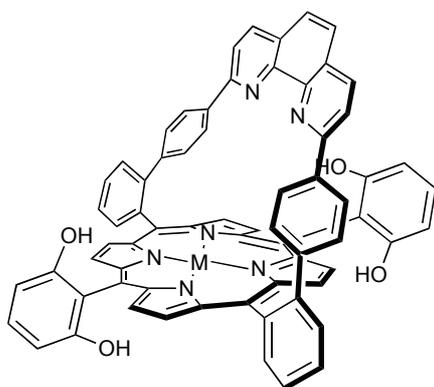
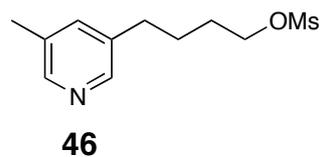
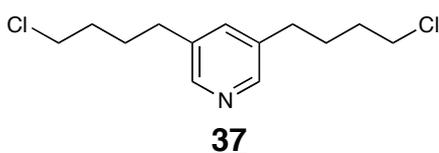
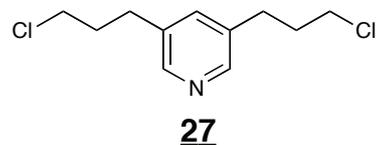
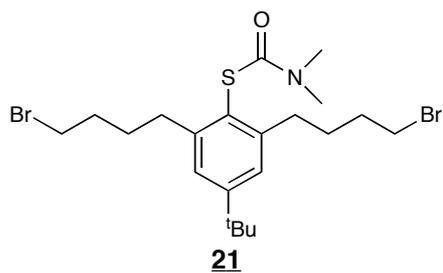
II Liste des tableaux

Tableau 1 : affinité pour le CO de la myoglobine, l'hémoglobine et la $\text{FePiv}_3(5\text{CImP})\text{Por}^{33}$.

Tableau 2 : tableau comparatif des principaux déplacements chimiques de **11** et **12**.

Tableau 3 : déplacements Raman (cm^{-1}) observés pour $[\text{54Fe}^{\text{III}}]^+$.

RECAPITULATIF DES COMPOSÉS SYNTHÉTISÉS



M = Zn(II) M' = ∅ **[54Zn^{II}]**
M = Zn(II) M' = Cu(I) **[54Zn^{II}Cu^I]⁺**
M = Fe(III) M' = ∅ **[54Fe^{III}]⁺**
M = Fe(III) M' = Cu(I) **[54Fe^{III}Cu^I]²⁺**
M = H₂ M' = ∅ **62**

Variations autour d'une porphyrine à anse phénanthroline : un site distal dynamique

Résumé

L'objectif de ce travail est l'obtention de mimes efficaces d'hémoprotéines telles le cytochrome P450, la myoglobine ou la cytochrome *c* oxydase, grâce à des variations synthétiques autour d'une porphyrine à anse phénanthroline (**Porphen**). Un nouveau modèle de cytochrome *c* oxydase a plus particulièrement été analysé ici. Il est préparé par substitution des deux positions *meso* d'une **Zn-Porphen**. Des phénomènes dynamiques ont été observés et étudiés par RMN ^1H , mettant en évidence la présence d'atropoisomères et la coordination-décoordination de la pyridine proximale sur le zinc. Le remplacement du zinc par du fer a ensuite permis l'étude de la coordination d'un sixième ligand exogène dans un site distal dynamique. L'évolution de la géométrie du complexe a été suivie par spectrophotométrie UV-Visible et RPE. En présence de ligands azotés de type imidazoles, il se forme dans tous les cas des complexes [1 récepteur/ 1 substrat]. La forte affinité de notre modèle pour le dioxygène a été montrée à la fois par spectrophotométrie UV-Visible, RMN ^1H et par résonance Raman. Que ce soit en UV-Visible ou en RMN, la réversibilité du dioxygène a été montrée par son remplacement par du CO. La souplesse de cette nouvelle architecture a été mise en évidence, par l'observation d'une relative flexibilité lors des études par spectroscopie IR de la fixation de CO dans le site distal. Cette adaptabilité est également à l'origine d'un comportement assez surprenant en électrochimie, où la réduction du fer(III) et l'oxydation du cuivre(I) en présence de O_2 sont facilitées. En électrocatalyse, la réduction de O_2 par ce nouveau modèle de cytochrome *c* oxydase n'est pas facilitée en terme de potentiel, mais efficace quant à la contribution d'un mécanisme à 4 électrons.

Mots clés : hémoprotéines, chimie biomimétique, cytochrome *c* oxydase, porphyrine, atropoisomère, fixation de dioxygène, électrochimie.

Abstract

The purpose of this work was to prepare efficient models of cytochrome P450, hemoglobin and cytochrome *c* oxidase, by various synthetic modifications on a phenanthroline-strapped porphyrin (**Porphen**). In particular, a new model of cytochrome *c* oxidase was analyzed here. This compound was obtained by substitution of both *meso* positions of a **Zn-Porphen**. Dynamics phenomena were observed and analyzed by ^1H NMR, showing the presence of atropoisomers and coordination-decoordination of the proximal pyridine on zinc. Zinc was then replaced by iron, which allows the coordination of a sixth exogenous ligand in the dynamic distal site. The evolution of the complexes' geometry was monitored by UV-Visible spectrophotometry and EPR. In the presence of imidazole ligands, complexes [1 receptor/ 1 substrate] were observed in all cases. Our model's high affinity for dioxygen was shown by UV-Visible and ^1H NMR spectroscopy and Raman resonance. In UV-Visible and NMR studies, the reversibility of dioxygen binding was demonstrated by replacement with CO. The versatility of this new architecture was demonstrated during IR studies by the relative flexibility of the CO binding in the distal site. This versatility also led to surprisingly behavior in electrochemistry, where the reduction of iron(III) and the oxidation of copper(I) were easier in the presence of O_2 . In electrocatalysis, the reduction of O_2 by this new cytochrome *c* oxidase model was not easier in terms of potential, but was efficient in a 4-electrons mechanism.

Keywords : hemoproteins, biomimetic chemistry, cytochrome *c* oxidase, porphyrin, atropoisomer, dioxygen binding, electrochemistry.