

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

THÈSE

Présentée devant

UNIVERSITE MENTOURI CONSTANTINE
FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE CHIMIE

Pour obtenir

Le Diplôme de Doctorat d'état Es-Sciences
Mention : Chimie

par

MOKHTARI MAHIEDDINE

*Synthèse, réactivité et structure de complexes diène fer carbonyle marqueurs
d'acides aminés, de peptides et de protéines.*

Soutenue le 13 / Juin / 2005 devant la Commission d'Examen

Mr. S.E. BOUAOUD Professeur à l'Université Mentouri Constantine	Président
Mr. A. MOUSSER Professeur à l'Université Mentouri Constantine	Rapporteur
Melle M. SALMAIN Chargé de recherche au CNRS Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Paris	Co-Rapporteur
Mr. A. GOUASMIA Professeur à l'Université Larbi Tebessi Tebessa	Examineur
Mr. S. RHOUATI Professeur à l'Université Mentouri Constantine	Examineur
Mr. H. BOUCHEMMA Maître de Conférences à l'Université Larbi Ben M'Hidi Oum-El-Bouaghi	Examineur

Je dédie cette thèse à la mémoire de ma mère qui m'a montré la première le chemin de l'école et m'a soutenu tout au long de mes études; à mon père qui m'a inspiré les principes de l'endurance, de la tenacité et de la persévérance dans le travail quotidien ; à ma femme qui a su me reconforter dans les moments difficiles et à mes fils Anouar , Bouchra , Chaker et Mohsen qui n'ont pas cessé de m'encourager pour terminer ce travail.

AVANT-PROPOS

Ce travail a été réalisé sous la direction de A. Mousser, Professeur à l'Université Mentouri de Constantine, et de Mademoiselle M. Salmain, Chargée de Recherche au CNRS, dans le cadre d'une collaboration avec le Laboratoire de Chimie des Organométalliques dirigé par Monsieur G. Jaouen, Professeur à l'Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Paris.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance à Monsieur A. Mousser pour m'avoir confié ce travail et pour l'aide précieuse qu'il m'a prodiguée pour sa réalisation.

Je remercie vivement Mademoiselle M. Salmain pour ses précieux conseils et pour le temps consacré à mon encadrement.

Mes remerciements vont également à Monsieur G. Jaouen pour m'avoir offert toutes les possibilités et les moyens de préparer cette thèse.

Je remercie Monsieur S.E. Bouaoud, Professeur à l'Université Mentouri Constantine qui me fait l'honneur de présider le jury.

J'adresse mes remerciements à Monsieur A. Gouasmia, Professeur à l'Université Larbi Tebessi de Tebessa, Monsieur S. Rhouati, Professeur à l'Université Mentouri de Constantine, Monsieur H. Bouchemma, Maître de Conférences à Université Larbi Ben M'Hidi Oum-El-Bouaghi, qui ont accepté de juger ce travail.

Je voudrais manifester ici ma reconnaissance et ma sympathie à tous les chercheurs et techniciens de l'Université Mentouri de Constantine et de l'Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Paris qui ont contribué d'une manière ou d'une autre à la réalisation de ce travail.

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE	1
CHAPITRE I : Les complexes fer carbonyles diènes	
I- Synthèse des complexes fer tricarbonyles diènes	
Introduction	2
1- Réaction des dérivés de l'acide sorbique avec $\text{Fe}(\text{CO})_5$	
2- Réaction des alcools α , β -insaturés avec les fer carbonyles	7
3- Réaction des produits d'addition de la réaction de Diels-Alder avec $\text{Fe}_3(\text{CO})_{12}$	12
4- Réaction de la β -ionone avec $\text{Fe}(\text{CO})_5$	13
5- Réaction du 1-méthoxy cyclohexa-1,4-diène avec les fer carbonyle	16
6- Réaction du cyclohexa-1,4-diène avec $\text{Fe}(\text{CO})_5$	21
II- Réactivité des complexes fer tricarbonyles diènes	
Introduction	23
1- Etude cinétique de l'addition nucléophile	24
2- Facteurs contrôlant la réactivité de l'addition nucléophile	24
CHAPITRE II : Les marqueurs organométalliques à base de fer	
Introduction	32
1- Préparation du complexe cyclohexa-1,3-diène fer tricarbonyle	34
2- Préparation du sel tétrafluoroborate (1-5- η -cyclohexadiényl) fer tricarbonyle	36
3- Préparation du complexe tétrafluoroborate 1-4- η -5-pyridinio cyclohexa-1,3-diène fer tricarbonyle	37

CHAPITRE III : Réactions de couplage du complexe marqueur fer tricarbonyle avec différents groupements nucléophiles

Introduction	41
1- Réaction de couplage du complexe fer tricarbonyle avec la n-butylamine	45
2- Réaction de couplage du complexe fer tricarbonyle avec la N-acétyl cystéine	48
3- Réaction de couplage du complexe fer tricarbonyle avec la N-acétyl histamine	51

CHAPITRE IV : Etude Cinétique de la réaction de couplage

Introduction	57
1- Etude cinétique de la réaction de couplage du complexe marqueur fer tricarbonyle avec la N-acétyl cystéine	60
2- Dosage acido-basique du complexe 1-4- η -5- N-acétyl histaminio-1,3-cyclohexadiène fer tricarbonyle	62

PARTIE EXPERIMENTALE

I- Matériels et méthodes	65
---------------------------------	----

II- Préparation des complexes fer tricarbonyles

1- Préparation du complexe cyclohexa-1,3-diène fer tricarbonyle	68
2- Préparation du sel tétrafluoroborate (1-5- η -cyclohexadiényl) fer tricarbonyle	68
3- Préparation du complexe tétrafluoroborate 1-4- η -5-pyridinio cyclohexa-1,3-diène fer tricarbonyle	69

III- Réactions de couplage du complexe marqueur fer tricarbonyle avec différents groupements nucléophiles

- 1- Réaction de couplage du complexe fer tricarbonyle avec la n-butylamine 70
- 2- Réaction de couplage du complexe fer tricarbonyle avec la N- acétyl cystéine 71
- 3- Réaction de couplage du complexe fer tricarbonyle avec la N-acétyl histamine 72
- 4- Préparation du complexe 1-4η-5-N-acétyl histamino cyclohexa-1,3-diène fer tricarbonyle 73

CONCLUSION GENERALE 75

BIBLIOGRAPHIE 77

ANNEXE

- * Etude cinétique qualitative de la réaction de couplage des complexes marqueurs fer tricarbonyles avec des ligands organiques par FT-IR
- * Article
- * Résumé en arabe
- * Résumé en anglais
- * Résumé en français

INTRODUCTION GENERALE

L'utilisation de complexes de métaux de transition à ligands carbonylés comme sondes bioanalytiques a été envisagée depuis le début des années 1980⁸⁵. Ce concept est né du fait que les complexes métallo-carbonyles présentent une ou plusieurs bandes d'absorption caractéristiques et intenses dans la région de l'infra rouge moyen (1800-2200 cm^{-1}) où les molécules organiques n'absorbent pas.

Deux voies principales ont été explorées : l'une fait appel à des traceurs radioactifs qui ont des limites techniques et légales liées à la sécurité des opérateurs, l'autre non radioactive, plus récente, fait appel à des traceurs froids (chimiluminescents ou bioluminescents).

Les chercheurs du Laboratoire "Structure et Réactivité des Complexes Moléculaires", unité de recherche CNRS, Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Paris proposent l'utilisation des complexes métaux-carbonyles $\text{M}_x(\text{CO})_y$, comme sonde non radioactive. Ainsi, la méthode d'immunoanalyse appelée CMIA (Carbonyl Metallo-Immuno-Assay)⁸⁷ a été mise au point. Cette méthode originale est basée sur l'utilisation de nouveaux traceurs froids obtenus par addition, sur un dérivé de l'analyte, d'un complexe métal carbonyle. La faisabilité de ce procédé a été prouvée par le dosage simultané de trois médicaments antiépileptiques la carbamazépine, le phénobarbital et la diphénylhydantoïne à l'aide du dicobalt hexacarbonyle, du cyclopentadiényle manganèse tricarbonyle et du benzène chrome tricarbonyle, respectivement⁸⁰. La quantification des traceurs se fait par une simple mesure d'absorbance d'un des pics caractéristiques du complexe, laquelle est proportionnelle à la quantité de traceur présent dans le milieu. Les applications futures de ces multi-immunodosages sont nombreuses : la recherche d'allergènes, la toxicologie d'urgence, les bilans thyroïdiens et le suivi de sujets polymédicamentés.

Le développement actuel de la chimie organométallique est tel qu'il est possible d'envisager la synthèse de marqueurs spécifiques pour le dosage des oestrogènes (hormones stéroïdes)⁸⁶, des flavonoides⁸² et des peptides⁸³. Ce qui autorise d'emblée l'extension de la CMIA aux dosages immunologiques de n'importe quelle molécule y compris les protéines⁸⁴.

Notre contribution dans ce domaine consiste d'abord à préparer le complexe tétrafluoroborate 1-4- η -5-pyridinio cyclohexa-1,3-diène fer tricarbonyle, un précurseur du cation très réactif $[\text{Fe}(\text{CO})_3(1-5-\eta\text{C}_6\text{H}_7)]^+$ capable de réagir avec les sites nucléophiles protéiques (amines, thiols, ...etc).

Le couplage du complexe tétrafluoroborate 1-4- η -5-pyridinio cyclohexa-1,3-diène fer tricarbonyle avec différents ligands organiques comportant des groupements fonctionnels nucléophiles protéiques tels que la n-butylamine, la N-acétyl cystéine et la N-acétyl histamine conduit respectivement aux complexes organométalliques tétrafluoroborate 1-4 η -5-butylamino cyclohexa-1,3- diène fer tricarbonyle , 1-4 η -5-N-acétyl cysténio cyclohexa-1,3-diène fer tricarbonyle , tétrafluoroborate 1-4- η -5- N-acétyl histaminio cyclohexa-1,3-diène fer tricarbonyle . La déprotonation de ce dernier à l'aide de la triéthylamine donne le complexe neutre 1-4- η -5- N-acétyl histaminio cyclohexa-1,3-diène fer tricarbonyle . Les complexes ainsi marqués ont été purifiés et analysés par les méthodes élémentaires et spectroscopiques (IR, RMN ^1H).

L'étude cinétique de ces réactions de couplage et le dosage acido-basique du complexe 1-4- η -5-N-acétyl-histaminio-cyclohexa-1,3-diène fer tricarbonyle ont été suivis par spectroscopie IR à Transformée de Fourier (FT-IR).

Chapitre I : Les complexes fer carbonyle diènes

I- Synthèse des complexes fer tricarbonyle diènes

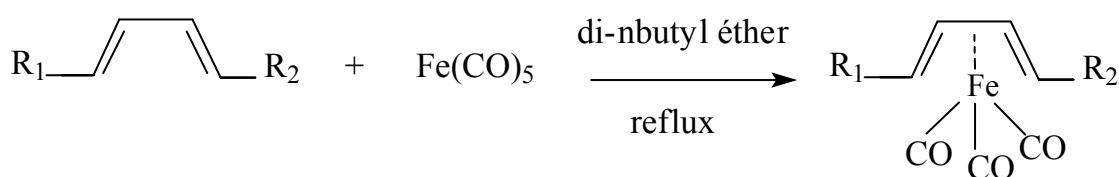
Introduction

Dans le domaine des organométalliques, l'introduction des métaux de transition sur des sites spécifiques des molécules biologiques par couplage covalent est une des techniques les plus étudiées à l'heure actuelle. Plusieurs stratégies ont été développées pour introduire l'entité métal carbonyle sur les systèmes π -diényles ont été décrites dans la littérature ¹⁻³.

1- Réaction des dérivés de l'acide sorbique avec $\text{Fe}(\text{CO})_5$

Stone et ses collaborateurs ⁴ ont étudié la réaction entre $\text{Fe}(\text{CO})_5$ et plusieurs dérivés de l'acide sorbique dans le benzène sans jamais arriver à isoler les complexes diènes- $\text{Fe}(\text{CO})_3$. Plus tard Michael Cais et M.Maoz ⁵ ont réussi à synthétiser des complexes à partir de $\text{Fe}(\text{CO})_5$, de l'acide sorbique et de ses dérivés en utilisant des solvants plus polaires comme le di-n-butyl éther (schéma 1).

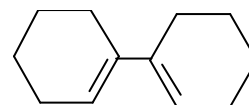
Schéma 1



Complexes <u>1</u>	R_1	R_2
a	CH_3	COOH
b	CH_3	COOCH_3
c	COOH	COOH
d	COOCH_3	COOCH_3
e	CH_3	CONH_2

f CH₃ COCH₃

g complexe de



Ainsi le complexe de l'acide sorbique **1a** a été obtenu avec un rendement de 59%. Les rendements⁶ des autres complexes fer tricarbonyle diènes **1a-1g** sont portés dans le tableau 1.

Tableau 1

Rendements des complexes fer tricarbonyle diènes **1a-1g**

Produits de réaction	Temps de reflux	Catalyseur	R ^{dt} (%)
1a (CH ₃ C ₄ H ₄ COOH)Fe(CO) ₃	8 h	sans	59.0
	8 h	BF ₃ étherate	61
	8 h	AlCl ₃ anhydre	61.7
1b (CH ₃ C ₄ H ₄ COOCH ₃)Fe(CO) ₃	8 h	sans	42.6.0
	8 h	AlCl ₃ anhydre	61.6
1c (C ₀₀ HC ₄ H ₄ COOH)Fe(CO) ₃	7 h	sans	39.6
	7 h	BF ₃ étherate	42.7
	7 h	AlCl ₃ anhydre	38.9
1d (C ₀₀ CH ₃ C ₄ H ₄ COOCH ₃)Fe(CO) ₃	24 h	sans	06.6
	24 h	BF ₃ étherate	32.4
	24 h	AlCl ₃ anhydre	18.2
1e (CH ₃ C ₄ H ₄ CONH ₂)Fe(CO) ₃	24 h	sans	27
	24 h	BF ₃ étherate	27

1f (CH ₃ C ₄ H ₄ COCH ₃)Fe(CO) ₃	24 h	sans	44.3
	24 h	BF ₃ étherate	53.2
	24 h	AlCl ₃ anhydre	49.2
1g (Bicyclohexényl)Fe(CO) ₃	24 h	sans	66.0

Effet des catalyseurs sur la réaction des diènes (1 équiv.) avec le fer pentacarbonyle (1.1 équiv.) dans le di-n-butyl éther comme solvant.

Pour chacun des diènes **1a** - **1g**, les trois réactions avec ou sans catalyseur (tableau 1) sont réalisées dans les mêmes conditions de temps de reflux et de température et sont traitées de manière similaire pour isoler le produit de réaction.

Les résultats, indiqués dans le tableau 1, montrent que les rendements des réactions avec les esters diène-carboxyliques sont affectés par la présence des acides de Lewis⁷. Par contre les rendements des complexes acides diène-carboxyliques sont pratiquement les mêmes avec ou sans catalyseur.

Les résultats des spectres IR et UV des complexes **1a** - **1g** et de leurs ligands parents (diènes conjugués non complexés) sont illustrés dans le tableau 2.

Tableau 2

Données spectroscopiques IR et UV des complexes **1a** - **1g** et de leurs ligands parents.

Composés	$\nu_{C\equiv O}$ (cm ⁻¹)	$\nu_{C=O}$ (cm ⁻¹)	$\lambda_{max.}(\log\epsilon)$ (nm)
Acide sorbique	-	1690	254(4.40)
1a	2100, 2050	1690	206(4.26), 228(4.23), 240(4.11), 300(3.38)
Sorbate de méthyle	-	1725	258(4.50)
1b	2100, 2050	1725	202(4.31), 228(4.19), 240(4.11), 300(3.27)

Acide muconique	-	1690	259(4.43)
<u>1c</u>	2100, 2050	1690	206(4.27),229(4.29), 240(4.20), 303(3.54)
Muconate de diméthyle	-	1725	259(4.56), 265(4.53)
<u>1d</u>	2100, 2050	1725	202(4.39),228(4.40), 240(4.31), 303(3.52)
Sorbamide	-	1660	251(4.44), 257(4.44)
<u>1e</u>	2070, 1970	1660	207(4.34), 234(4.19), 300(3.31)
Sorbyl cétone	-	1660	270(4.46)
<u>1f</u>	2070, 1970	1660	202(4.41),225(4.27) 250(4.16), 310(3.53)
Bicyclohexényl	-	-	238(4.26)
<u>1g</u>	2050, 2000	-	202(4.25), 229(4.13), 240(4.07), 290(3.25)

Les bandes d'absorption IR des fonctions carboxyles , carboxylates ou cétone sortent au même endroit pour le composé parent (diène libre) et le complexe diène-Fe(CO)₃ correspondant.

L'étude du spectre UV montre que les 2 bandes d'absorption à 228 et 240 nm observées pour les complexes diène-Fe(CO)₃ sont de type transition π - π^* des systèmes diènes conjugués^{8,9}. Les diènes conjugués libres (non complexés) absorbent autour de 259 nm (ϵ =25000-28000) . Ce déplacement hypsochromique des bandes , et en particulier le changement hypsochromique en intensité (ϵ =12000-15000) observés dans les complexes diène-Fe(CO)₃

est dû à la conversion de la conformation s-trans dans les diènes libres à la conformation s-cis dans les complexes¹⁰.

Tous les spectres IR ont été mesurés en solution CHCl₃[excepté **1c** , dans KBr] sur spectrophotomètre Model 137 Infracord Perkin-Elmer.

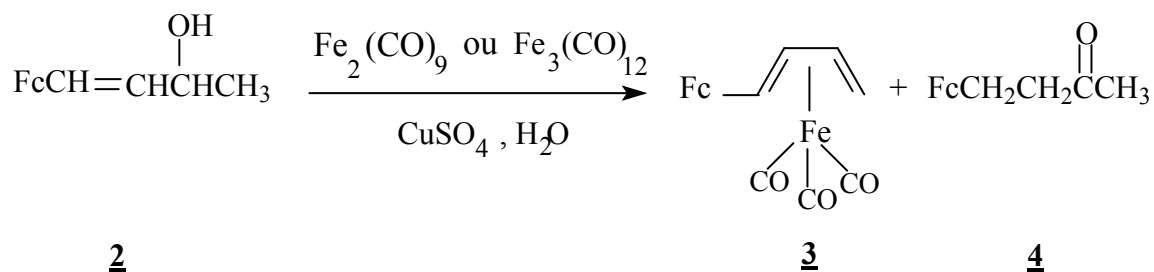
Tous les spectres UV ont été mesurés en solution éthanol sur un spectrophotomètre Carry Model 14.

2- Réaction des alcools α,β-insaturés avec les fer carbonyles

Le caractère labile de certains diènes (ce qui entrave leur isolement et leur purification), et la nécessité d'opérer à température élevée pendant une durée relativement importante favorisent des réactions parasites (essentiellement la polymérisation). Pour ces raisons, N.S. Nametkine et ses collaborateurs¹¹ ont développé de nouveaux procédés de préparation des complexes fer carbonyles.

En prenant pour exemple la préparation des ferrocényl-buta -1,3-diène fer tricarbonyle , il a été mis en évidence les possibilités synthétiques de la réaction de déshydratation des alcools α,β-insaturés en présence de dérivés du fer carbonyle. En effet, dans la déshydratation de l'alcool secondaire 1-ferrocényl 3-hydroxy butène **2** par CuSO₄ , 5 H₂O en présence des dérivés du fer carbonyle, outre l'obtention du complexe majoritaire 1-ferrocényl buta-1,3-diène fer tricarbonyle **3**, le produit carbonylé 4-ferrocényl but-2-one **4** est également obtenu (produit d'isomérisation de l'alcool α,β-insaturé **2**). Cela signifie que dans ce cas deux réactions concurrentes ont lieu : l'isomérisation et la déshydratation (schéma 2).

Schéma 2

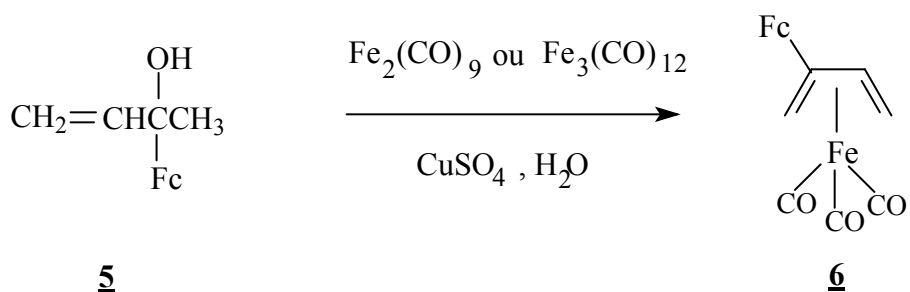


Fc = C₅H₅FeC₅H₄ (bis cyclopentadiényl-fer : Fe en sandwich entre les deux cycles).

Pour éviter l'obtention du produit d'isomérisation **4**, la déshydratation de l'alcool **2** est effectuée par CuSO_4 , $5 \text{ H}_2\text{O}$ en l'absence des dérivés du fer carbonyle. Le diène ainsi formé est ensuite complexé avec les dérivés du fer carbonyle sans être isolé du mélange réactionnel¹².

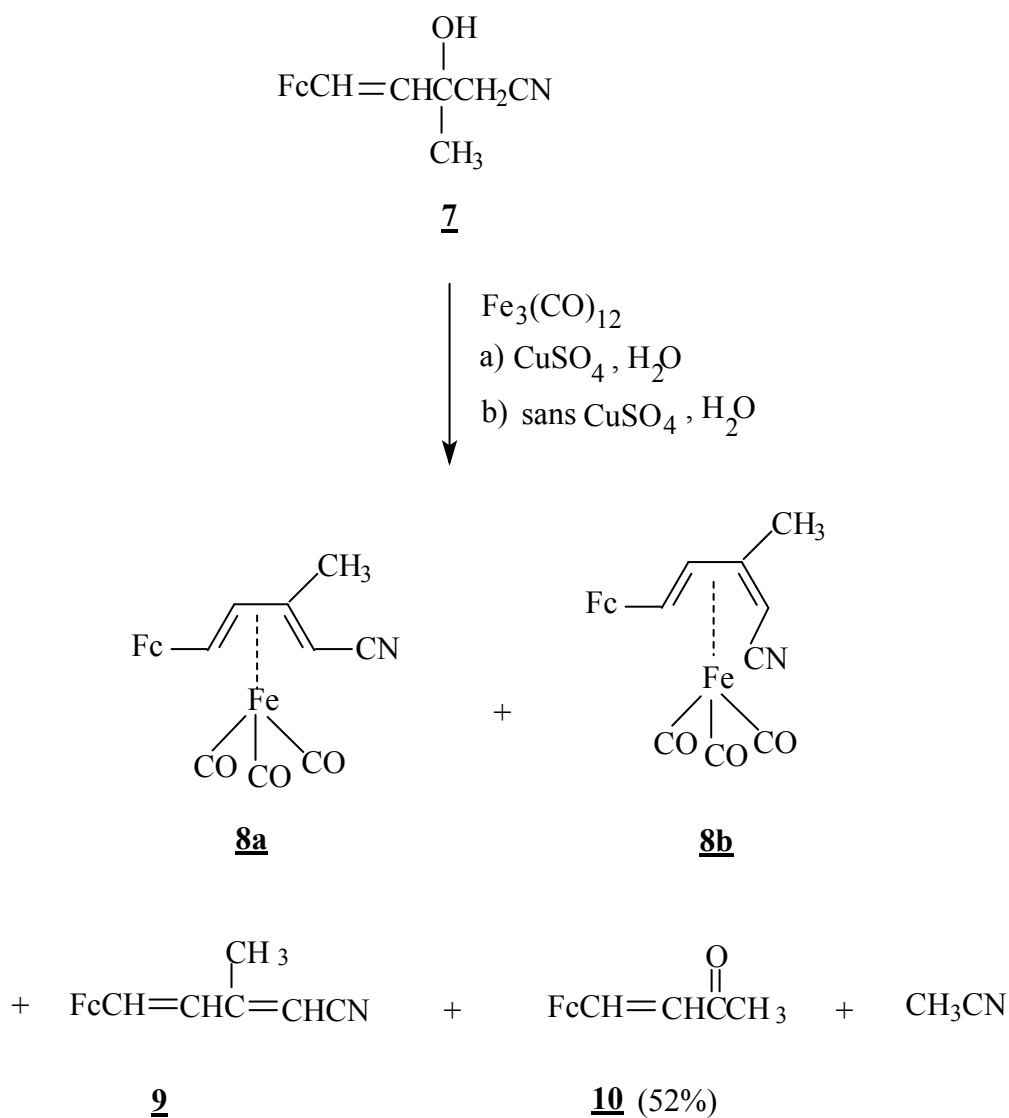
La déshydratation de l'alcool tertiaire 3-ferrocényl 3-hydroxy butène **5**, effectuée également par CuSO_4 , $5 \text{ H}_2\text{O}$ sous l'effet des dérivés carbonylés du fer¹³ a conduit au complexe 2-ferrocényl buta-1,3-diène **6**. Dans ce cas l'isomérisation de l'alcool tertiaire en composé carbonylé ne pouvait avoir lieu (schéma 3).

Schéma 3



L'essai de déshydratation d'un autre alcool tertiaire 1-cyano 4-ferrocényl 2-hydroxy 2-méthyl but-3-ène **7** en présence de $\text{Fe}_3(\text{CO})_{12}$ pour la synthèse du complexe 1-cyano 4-ferrocényl 2-méthyl buta-1,3-diène fer tricarbonyle **8** a conduit à un résultat inattendu¹⁴. Les principaux produits de la réaction sont la ferrocénalacétone **10** (52%) et l'acétonitrile (schéma 4).

Schéma 4



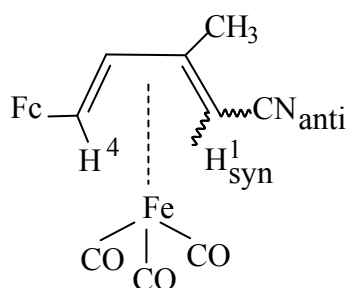
Ce qui prouve que la réaction se déroule en sens inverse de la réaction de Knövenagel. Ce sont les réactifs qui ont entraîné la scission de l'alcool tertiaire **7**. Après ébullition dans le benzène pendant 15 heures l'alcool **7** a été récupéré inchangé tandis qu'en présence de $\text{CuSO}_4, 5\text{H}_2\text{O}$ il se forme, avec un rendement quantitatif, un mélange d'isomères du composé diène conjugué **9** (1/3 s-cis et 2/3 s-trans).

L'interaction de **7** avec $\text{Fe}_3(\text{CO})_{12}$ sans $\text{CuSO}_4, 5\text{H}_2\text{O}$ conduit simultanément aux produits de la déshydratation et de la réaction inverse de Knövenagel (schéma 3).

Les deux isomères **8a** et **8b** sont séparés par chromatographie préparative en couche mince sur alumine et purifiés par cristallisation fractionnée multiple. Bien que les spectres IR soient très comparables, les résultats de la spectroscopie RMN ^1H et de l'analyse élémentaire sont suffisamment convaincants pour l'identification univoque de ces complexes¹⁵.

Les positions des signaux dus aux protons H^1 (0,04 δppm) et H^4 (1,99 δppm) dans le spectre RMN ^1H de **8a** permettent d'estimer que dans ces complexes le groupement nitrile se trouve en position syn alors que l'absorption par résonance des protons H^1 (2,14 δppm) et H^4 (3,63 δppm) dans le spectre de **8b** indique un isomère anti (schéma 5).

Schéma 5



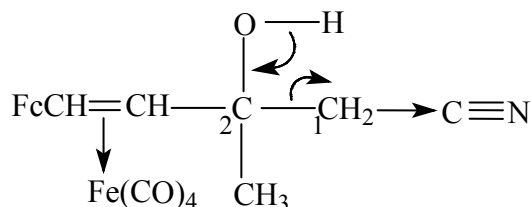
8a , **8b**

Par conséquent, alors que l'isomérisation de l'alcool secondaire α,β -insaturé **2** se transforme en cétone **4**, l'alcool tertiaire α,β -insaturé **5** n'est pas isomérisé en composé carbonylé, ce qui s'accorde avec le mécanisme d'isomérisation de ces composés insaturés par l'intermédiaire d'un hydrure métallique π -allylique^{16,17} sous l'effet des dérivés carbonylés du fer.

Dans la discussion des mécanismes éventuels des réactions des composés non saturés avec les complexes des métaux de transition, l'oléfine réagit de façon réversible avec le métal de transition pour former un composé organométallique intermédiaire dans lequel la liaison qui se trouve en position β par rapport à l'atome de carbone lié au métal s'affaiblit sous l'action du métal¹⁸. En effet, il s'agit d'une coordination du groupement $\text{Fe}(\text{CO})_4$ avec le composé **7** avec formation d'un complexe labile (en effet le composé **7** tout comme la ferrocénylacétone ne se forment pas dans les conditions de l'expérience avec des complexes π stables) dans lequel a lieu une redistribution importante de la densité électronique.

L'action mutuelle de deux groupements fortement actifs : fer tétracarbonyle et nitrile entraîne la rupture de la liaison C(1)—C(2) dans le composé **7** (schéma 6).

Schéma 6



Le fait que $\text{Fe}_3(\text{CO})_{12}$, outre la scission du composé **7** en ferrocénylacétone et acétonitrile, contribue à l'élimination d'eau avec formation du diène **9** (schéma 4) est lié à l'interaction du fer carbonyle avec la liaison double entraînant un affaiblissement de la liaison C(2)—OH (qui se trouve également en position β) et provoque de ce fait la déshydratation.

La déshydratation des alcools α,β -insaturés en présence de dérivés du fer carbonyle s'effectue en portant à reflux le mélange réactionnel de l'alcool approprié (1 équiv.), de $\text{Fe}_2(\text{CO})_9$ (2 équiv.) et de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (1 équiv.). Les rendements de ces réactions et les résultats spectroscopiques IR des complexes fer tricarbonyles obtenus sont rassemblés dans le tableau 3.

Tableau 3

Rendements et résultats spectroscopiques IR des complexes fer tricarbonyle **3**, **6**, **8a** et **8b**.

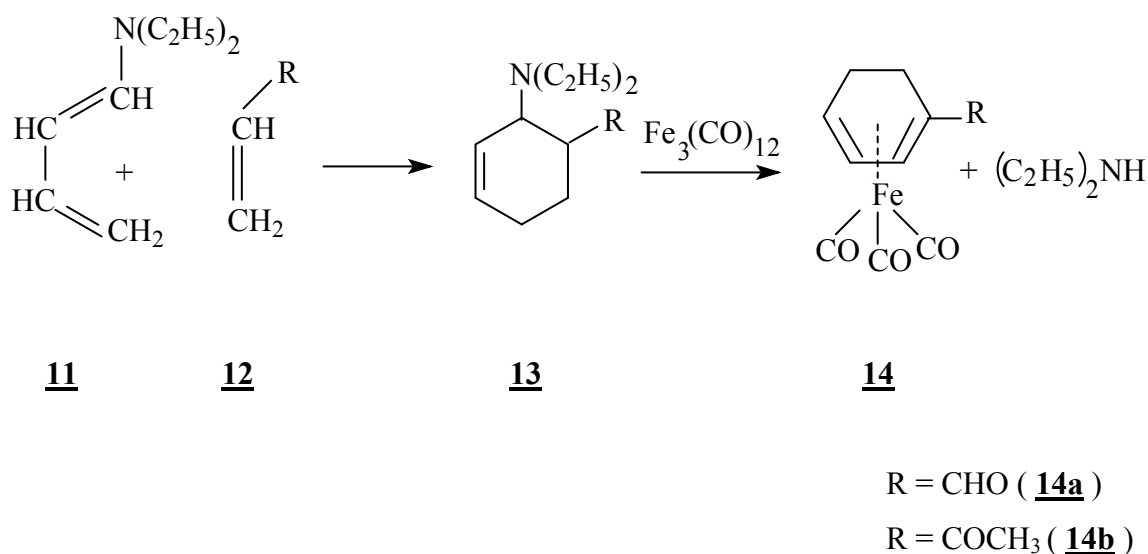
Complexe	R ^{dt} (%)	Bandes d'absorption IR (cm ⁻¹)
3	10	$\nu\text{C}\equiv\text{O}$: 2055, 2010, 1985, 1965
6	18	$\nu\text{C}\equiv\text{O}$: 2055, 1973
8a	10	$\nu\text{C}\equiv\text{O}$: 2065, 1990 $\nu\text{C}\equiv\text{N}$: 2225
8b	10	$\nu\text{C}\equiv\text{O}$: 2060, 1980 $\nu\text{C}\equiv\text{N}$: 2200

Les résultats, indiqués dans le tableau 3, montrent que les rendements des réactions des alcools α,β -insaturés avec les dérivés du fer carbonyle restent relativement faibles. Ainsi, il a été établi que la déshydratation des alcools α,β -insaturés en présence de dérivés du fer carbonyle n'est efficace qu'en ce qui concerne les alcools n'ayant pas d'atomes d'hydrogènes en position allylique, sinon la majeure partie de l'alcool serait isomérisée en un composé carbonylé. L'intérêt des alcools α,β -insaturés dans cette synthèse, s'explique d'abord par leur accessibilité et, en second lieu, par la facilité de leur déshydratation.

3- Réaction des produits d'addition de la réaction de Diels-Alder avec $\text{Fe}_3(\text{CO})_{12}$

Par action de $\text{Fe}_3(\text{CO})_{12}$ sur le mélange réactionnel obtenu à partir du diène activé 1-(N,N-diméthyl amino) buta-1,3-diène **11** et d'un agent diénophile approprié **12**, en évitant l'étape d'isolement du produit d'addition **13**, les complexes π -cyclohexadiéniques substitués **14a** et **14b** sont obtenus¹⁹ (schéma 7).

Schéma 7



Les groupements alkyl amino du composé **13** en position β par rapport à un groupement accepteur d'électrons sont facilement éliminés avec formation d'un composé non saturé²⁰.

Cette approche est mise à profit pour la synthèse des complexes de cyclohexadiènes substitués en 1 à partir de 1-(N,N-diéthyl amino) buta-1,3-diène (1 équiv.) , d'un agent diénophile convenable (1,25 équiv.) et de Fe₃(CO)₁₂ (0,75 équiv.) , lesquels sont portés à reflux de 4 h dans le benzène exempt de thiophène.

Les rendements et les résultats spectroscopiques IR sont assignés dans le tableau 4.

Tableau 4

Rendements et résultats spectroscopiques IR des complexes **14a** et **14b**.

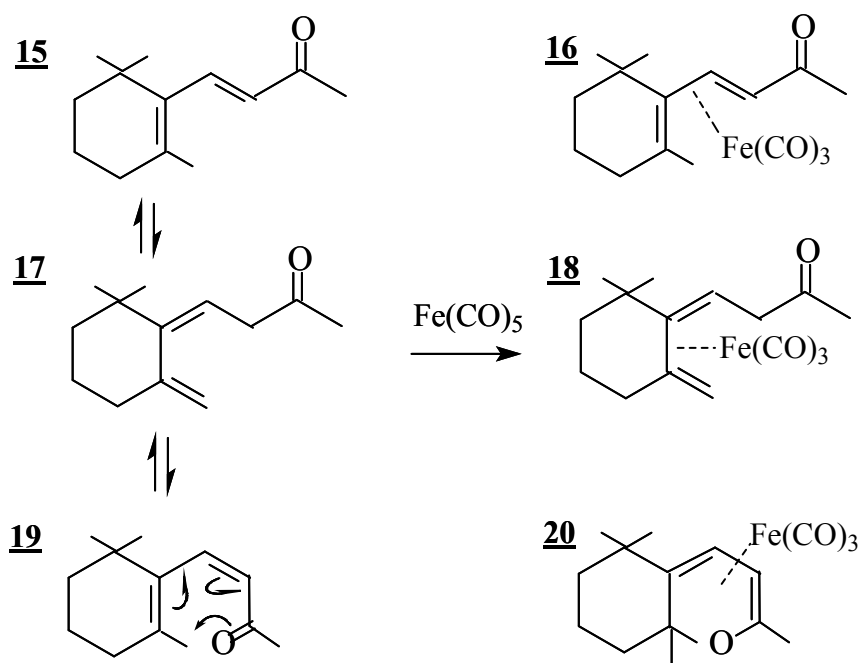
Complexe	R ^{dt} (%)	Bandes d'absorption IR
14a	56	$\nu\text{C}=\text{O}$: 1680 ; $\nu\text{C}\equiv\text{O}$: 1985 , 2040
14b	43	$\nu\text{C}=\text{O}$: 1680 ; $\nu\text{C}\equiv\text{O}$: 1985 , 2040

4- Réaction de la β -ionone avec Fe(CO)₅

De la réaction de la β -ionone **15** avec Fe(CO)₅ dans le di-n-butyl éther comme solvant trois complexes diènes fer tricarbonyles **16** , **18** et **20** sont isolés (schéma 8). Après 8h à reflux dans le di-n-butyl éther , la réaction est laissée sous agitation à température ambiante pendant une nuit. Ainsi , se forment les complexes **16** , **18** et **20** dans des proportions différentes en fonction des conditions opératoires^{21,22}.

En plus des complexes **16** et **18** , lesquels présentent en spectroscopie IR des bandes d'absorption respectives à 1670 et 1720 cm⁻¹ , un troisième complexe **20** est également observé avec des bandes carbonyles terminales dans la région 2000 cm⁻¹ mais en l'absence de bandes dans la région 1670-1720 cm⁻¹. L'identification de ces trois complexes est faite sur la base des spectres UV , IR et RMN¹H.

Schéma 8



Les bandes d'absorption des spectres IR et UV des complexes **16** et **18** sont indiquées dans le tableau 5.

Tableau 5

Données spectroscopiques IR et UV des complexes **16** et **18**.

Complexes	$\nu_{\text{C=O}}(\text{cm}^{-1})$	$\lambda_{\text{max}} (\log \epsilon) (\text{nm})$
16	1670	205(4.23), 220(4.23), 296(3.85)
18	1720	205(4.07), 225(3.90), 300(3.32)

Si le mélange réactionnel est traité immédiatement ou bien conservé à froid 0°C , la proportion du complexe **18** diminue fortement au détriment de celle du complexe **16**.

Quand une solution de la β -ionone **15** dans le di-n-butyl éther , sans $\text{Fe}(\text{CO})_5$ est portée à reflux pendant 8h , il n'y a pas de réarrangement de la β -ionone **15** en exo-ionone **17**.

L'exo-ionone **17** , isolée préalablement par irradiation lumineuse^{23,24} de la β -ionone **15** conduit sous l'action de $\text{Fe}(\text{CO})_5$ et après 6h de reflux au mélange des deux complexes **16** et **18**.

Une solution de la β -ionone **15** avec $\text{Fe}(\text{CO})_5$ en présence d'un catalyseur BF_3 dans le di-n-butyl éther donne dans les mêmes conditions de reflux un seul complexe **18**.

Quand une solution de la β -ionone **15** dans le di-n-butyl éther avec BF_3 comme catalyseur , mais sans $\text{Fe}(\text{CO})_5$ est portée à reflux pendant 8h , les deux isomères **15** et **17** sont obtenus avec une prédominance pour l'exo-ionone **17**.

L'exo-ionone **17** , porté à reflux pendant 6h dans le di-n-butyl éther en présence de BF_3 , mais sans $\text{Fe}(\text{CO})_5$ donne le même complexe **17**. L'isomérisation de l'exo-ionone **17** en β -ionone **15** n'a pas eu lieu .

Une solution de la β -ionone **15** avec $\text{Fe}_2(\text{CO})_9$ dans l'éther de pétrole (40-60°C) conduit , après agitation à température ambiante sous azote pendant 24h à un seul complexe **16**. Il n'y a pas de réarrangement du complexe **16** en complexe **18**.

En vue des résultats expérimentaux ci dessus , $\text{Fe}(\text{CO})_5$ est responsable à la fois de la conversion géométrique²¹ s-trans \leftrightarrow s-cis et de l'isomérisation des doubles liaisons^{25,26} **15** \leftrightarrow **17**. Il est aussi bien établi que pour former un complexe diène fer tricarbonyle le système diène conjugué doit être capable de se convertir en conformation s-cis coplanaire¹⁰. La planéité du système diène conjugué a été confirmée par RX²⁷.

Sur la base de cette interprétation , il ressort que le système π -électron dans les complexes diène- $\text{Fe}(\text{CO})_3$ ne semble pas être perturbé. En effet une étude²⁸ du spectre d'absorption électronique des complexes de type $\text{LM}(\text{C}_5\text{H}_5)$ et $\text{LM}(\text{CO})_3$ avec L étant un dérivé de la quinone , un cyclopentadiénone ou un dioxyde thiophène et $\text{M} = \text{Co}$, Fe ou Ni a montré que les systèmes π -électron des ligands ci-dessus sont faiblement perturbés par les interactions des métaux et que le nombre et la position des bandes des liaisons observées dans ces complexes sont en accord avec les prédictions qualitatives de la théorie LCAO-MO.

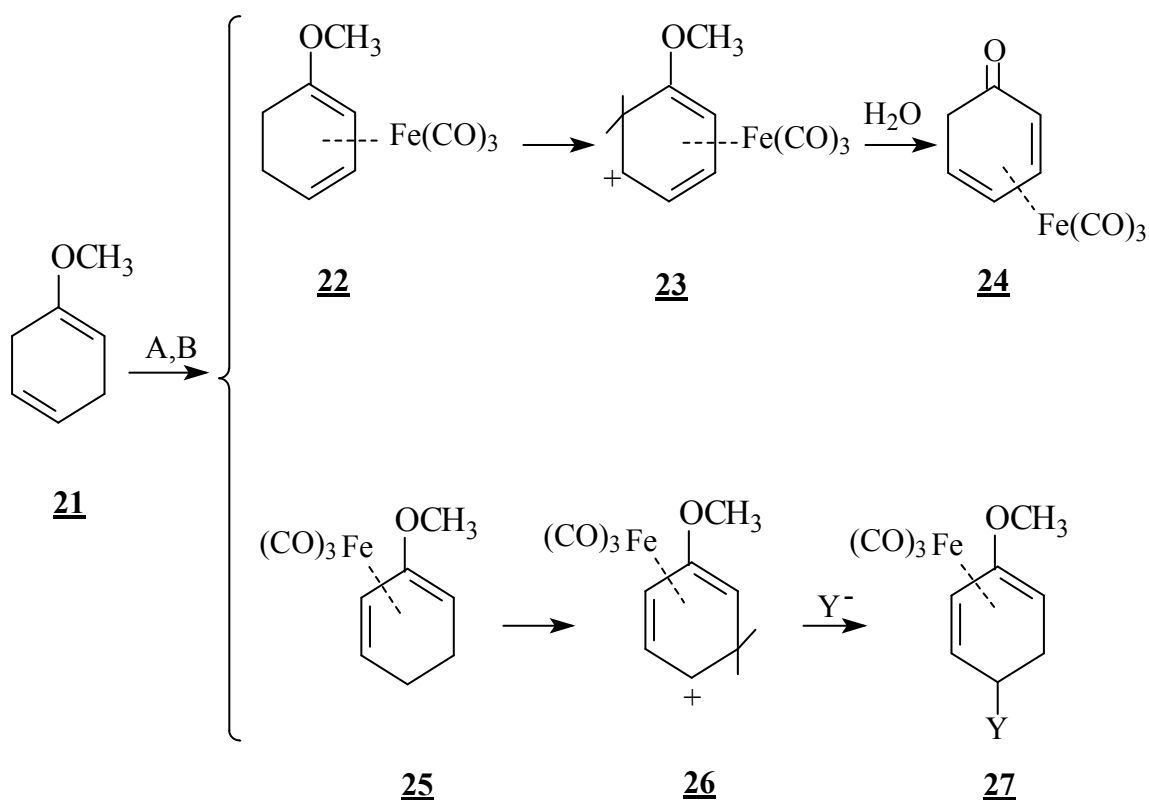
5- Réaction du 1-méthoxy cyclohexa-1,4-diène avec les fer carbonyle

Les réactions sont réalisées avec $\text{Fe}_3(\text{CO})_{12}$ à reflux dans le benzène (méthode A) ou par irradiation UV avec $\text{Fe}(\text{CO})_5$ dans le benzène (méthode B). Les complexes formés sont diamagnétiques et assez stables à l'air.

L'identification de ces complexes est réalisée à l'aide des investigations spectroscopiques IR, UV et RMN^1H . Cette dernière est aussi utilisée pour déterminer les compositions des mélanges obtenus.

La réaction de 1-méthoxy cyclohexa-1,4-diène **21** avec des fer carbonyles dans différentes conditions opératoires conduit dans tous les cas au mélange de deux composés **22** et **25** (schéma 9).

Schéma 9



La composition du mélange des composés **22** et **25** est estimée en fonction de l'intensité du pic du groupement méthoxy qui sort respectivement à $\tau = 6.55$ et 6.40 en RMN^1H (TMS) (tableau 6).

Tableau 6

Composition du mélange des complexes **22** et **25** obtenu à partir d'un diène non conjugué dans différentes conditions opératoires.

Méthode	Temps de réaction	R ^{dt} total	% 22	% 25
A	4h	32%	76	24
B	12h	-	45	55
Fe ₂ (CO) ₉	7h dans l'éther	10%	60	40

L'interruption de la dernière réaction avec Fe₂(CO)₉ après 2h30mn d'agitation dans l'éther donne exclusivement le composé **25**.

La réaction de 1-méthoxy cyclohexa-1,3-diène **28**, obtenu par action d'une base (schéma 10) sur le composé **21**, avec les fer carbonyles conduit également au mélange des deux composés **22** et **25** (tableau 7).

Schéma 10

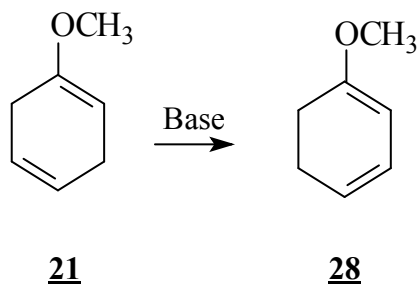


Tableau 7

Composition du mélange des complexes **22** et **25** obtenu à partir d'un diène conjugué dans différentes conditions opératoires.

Méthode	Temps de réaction	R ^{dt} total	% 22	% 25
A	4h	30%	80	20
B	12h	-	70	30
Fe ₂ (CO) ₉	7h	-	100	0

La méthode A conduit aux mêmes résultats pour les deux isomères 1-méthoxy cyclohexadiènes conjugué **28** et non conjugué **21**. Par contre la réaction avec Fe₂(CO)₉ (7h dans l'éther) conduit exclusivement au composé **22**.

Dans la méthode B la proportion du complexe **22** passe de 45% pour le diène non conjugué à 70% pour le diène conjugué.

Il est aussi établi²⁶ qu'il n'y a pas d'interconversion entre les deux complexes isomères **22** et **25** une fois formés. Ainsi, le complexe **25** pur avec Fe₂(CO)₉ porté à reflux dans le benzène reste inchangé et la composition du mélange des deux isomères **22** (45%) et **25** (55%) n'est pas modifiée par l'irradiation UV du Fe(CO)₅ dans le benzène.

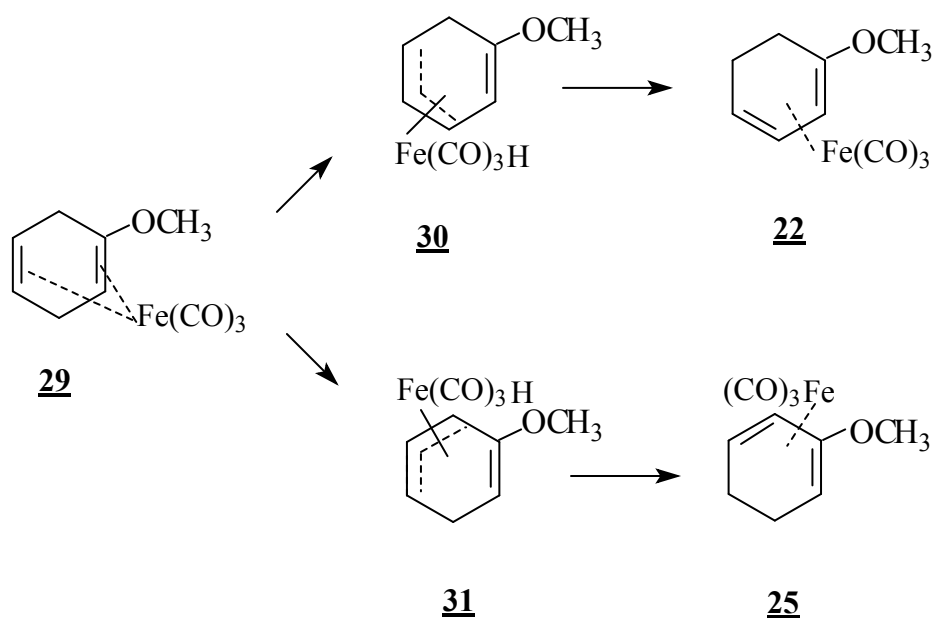
Comme il n'y a pas eu d'étude cinétique complète effectuée pour ces réactions, de minces conclusions peuvent être tirées de ces résultats :

- Avec Fe₂(CO)₉, le diène non conjugué **21** s'isomérisé en diène conjugué **28** pour donner essentiellement le complexe **22** tandis que le diène non isomérisé conduit au complexe **25**.
- Avec Fe(CO)₅ le mécanisme semble être le même que celui décrit précédemment avec Fe₂(CO)₉.
- Avec Fe₃(CO)₁₂ le diène non conjugué **21** semble être une espèce aussi bien active que son isomère conjugué **28**.

d) Ainsi dans l'ensemble , la formation des complexes à partir des diènes non conjugués s'accompagne d'un déplacement d'une double liaison (isomérisation en diènes conjugués) qui présente les propriétés d'accepteur les plus prononcés. Le mécanisme de formation de ces derniers ne dépend que de la nature des fer carbonyles utilisés.

Pour expliquer la formation des complexes **22** et **25** dans ces réactions et non du troisième isomère possible (Y= OCH₃ en position 5) , Petit et ses collaborateurs²⁷ ont suggéré un mécanisme avec Fe₃(CO)₁₂ (schéma 6) passant par des intermédiaires hydro- π -allyle complexes **30** et **31** et donnant respectivement deux complexes **22** et **25** (schéma 11).

Schéma 11



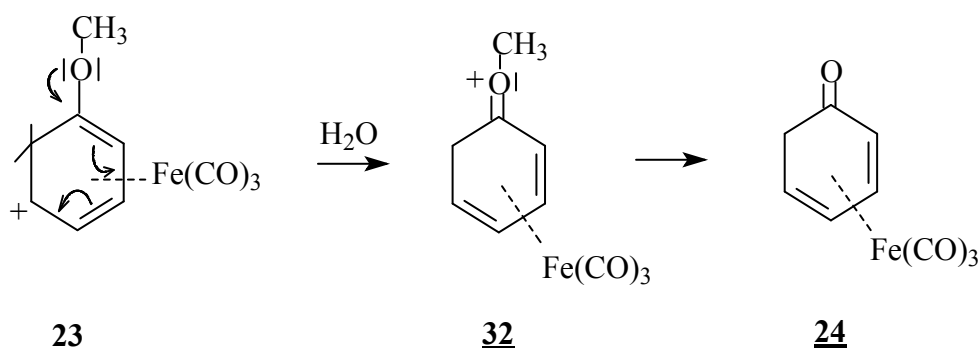
En effet , la réaction de 1-méthoxy-cyclohexa-1,4-diène **21** avec les fer carbonyles conduit seulement au mélange des deux complexes **22** et **25**.

En théorie l'étude de la réaction des deux complexes méthoxy diènes fer tricarbonyles **22** et **25** avec Ph₃CBF₄ prévoit la formation de trois isomères méthoxy fer tricarbonyles π -cyclohexadiényle ; en fait la réaction donne seulement deux isomères **23** et **26** identifiés par les méthodes spectrales IR , UV et RMN ¹H. Ces deux sels **23** et **26** sont diamagnétiques , solubles dans les solvants polaires comme H₂O , CH₃NO₂ et SO₂ liquide. Leur spectre IR présente chacun deux intenses bandes de fréquences plus hautes que celles observées pour les complexes neutres : $\nu_{C\equiv O} = 2100-2120\text{ cm}^{-1}$ et $2040-2070\text{ cm}^{-1}$ respectivement.

Le complexe neutre diénone **24**, obtenu par hydrolyse du sel tétrafluoroborate 1-méthoxy- π - cyclohexadiényle fer tricarbonyles **23** montre en spectroscopie IR (CHCl_3) deux bandes carbonyles terminales à 2000 et 2063 cm^{-1} et une bande d'absorption UV ($\lambda_{\text{max.}}=390$ nm) caractéristique de la fonction cétone α,β -insaturée.

Le mécanisme²⁹ d'obtention du complexe **24** est expliqué par la possibilité de délocalisation de la charge (+) engageant le groupement méthoxy (schéma 12).

Schéma 12

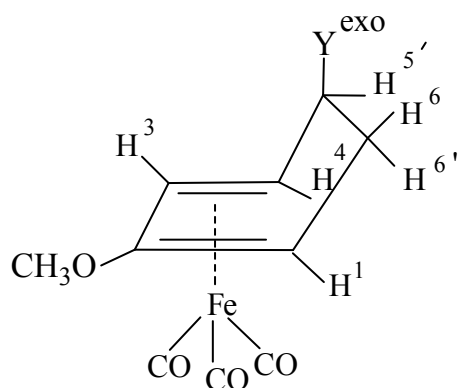


La structure du complexe **24**, solide jaune hautement cristallin a été confirmé par diffraction RX¹⁰.

La réaction du sel tétrafluoroborate 2-méthoxy- π - cyclohexadiényle fer tricarbonyles **26** avec les ions (CH_3O^- , $\text{C}\equiv\text{N}^-$), les organo-lithiens (LiCH_3) et les nucléophiles comme H_2O (en présence de NaHCO_3), pyrrolidine, morpholine, malonate diéthylique et acétylacétone donne les complexes **27**^{30,31}.

L'étude de cette réaction a montré que l'attaque du nucléophile se fait en position para par rapport au groupement méthoxy, laquelle a été confirmée dans le cas du cyano-complexe (**27**, $\text{Y} = \text{C}\equiv\text{N}$) par réduction de ce dernier avec le palladium sur charbon donnant le p-méthoxy benzonitrile. En outre, la réduction du sel **26** avec NaBD_4 donne le dérivé mono deutéré de **21** et par réaction inverse avec Ph_3CBF_4 , l'ion hydrure deutéré est enlevé indiquant que l'attaque nucléophile est régiosélective. Cette attaque est aussi stéréosélective ; se faisant du côté opposé à l'entité organométallique $\text{Fe}(\text{CO})_3$ (configuration exo)^{32a} (schéma 13).

Schéma 13

**27**

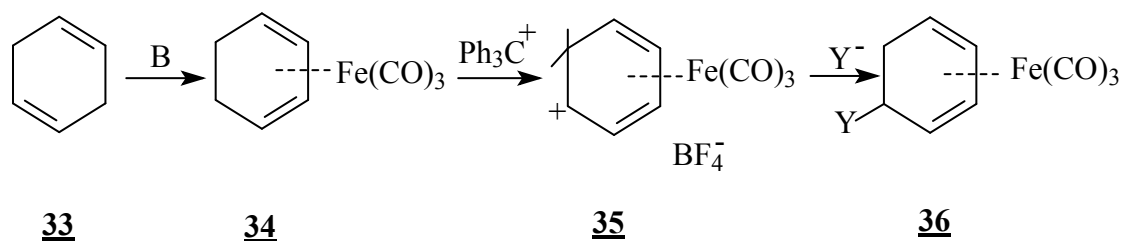
Les complexes **27** sont caractérisés à l'aide des spectroscopies UV , IR , RMN ^1H et par spectrométrie de masse.

Wilkinson et ses collaborateurs^{32b} ont examiné les spectres RMN ^1H des complexes fer tricarbonyles et de leurs analogues diènes libres montrant une forte ressemblance particulièrement pour les protons H(6) du méthylène et montré la non équivalence des protons H⁶ et H^{6'}.

6- Réaction du cyclohexa-1,4-diène avec $\text{Fe}(\text{CO})_5$

Une solution de cyclohexa-1,4-diène **33** avec $\text{Fe}(\text{CO})_5$ dans le benzène est activée par irradiation UV (lampe à mercure 125 W) pendant 50h. Après distillation sous vide le complexe fer tricarbonyl cyclohexa-1,3-diène **34** est isolé (schéma 14)³³.

Schéma 14



L'identification du complexe **34** a été réalisée à l'aide des investigations spectroscopiques UV , IR et RMN ¹H. Le spectre IR du complexe **34** présente 2 bandes carbonyles ν (C≡O) à 1974 et 2046 cm^{-1} .

La réaction du fer tricarbonylcyclohexa-1,3-diène **34** avec le tétrafluoroborate triphényl carbénium^{34,35} dans CH_2Cl_2 conduit après 30 mn d'agitation au sel tétrafluoroborate π -cyclohexadiényl fer tricarbonyle **35**. Le spectre IR du sel **35** présente en plus des bandes carbonyles ν (C≡O) = 2032 , 2071 , 2129 cm^{-1} , 3 bandes de l'anion BF_4^- ν (B-F) = 1109 , 1074 , 1018 cm^{-1} .

Le sel **35** réagit avec des entités nucléophiles comme (CH_3ONa , $\text{NaC}\equiv\text{N}$, LiCH_3) et avec d'autres nucléophiles comme l'eau , la pyrrolidine , la morpholine , le malonate diéthylique et l'acétyl acétone pour conduire au complexe **36** substitué en 5.

Les rendements de cette réaction avec différents nucléophiles sont portés dans le tableau 8.

Tableau 8

Rendements du complexe **36** avec différents nucléophiles.

Nucléophile	Solvant	Etat	P ^t de fusion	R ^{dt} (%)
H_2O (Y=OH)	eau saturée de NaHCO_3	solide blanc	48-50°	75
NaOCH_3 (Y= OCH_3)	méthanol	huile jaune	-	57
NaCN (Y=CN)	eau	solide jaune	88-89°	52
CH_3Li (Y= CH_3)	éther	huile jaune	-	39
Acétylacétone (Y= $\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2$)	eau	solide jaune	68-70°	93
Pyrrolidine (Y= $\text{C}_4\text{H}_9\text{N}$)	eau	huile jaune	-	82
Morpholine (Y= $\text{C}_4\text{H}_9\text{NO}$)	eau	solide jaune	112-113°	80

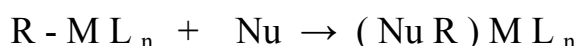
Il ressort de ces résultats que les carbanions (acétyl acétone) et les amines (pyrrolidine , morpholine) présentent une assez bonne nucléophilie vis à vis des complexes π -cationiques **35**.

II- Réactivité des complexes fer tricarbonyles diènes

Introduction

La capacité de certains métaux de transition (ML_n) à activer le système π -cyclohexadiényle vis à vis de l'attaque nucléophile des ligands organiques a été montrée il y a déjà fort longtemps (schéma 15) ³⁶⁻³⁸.

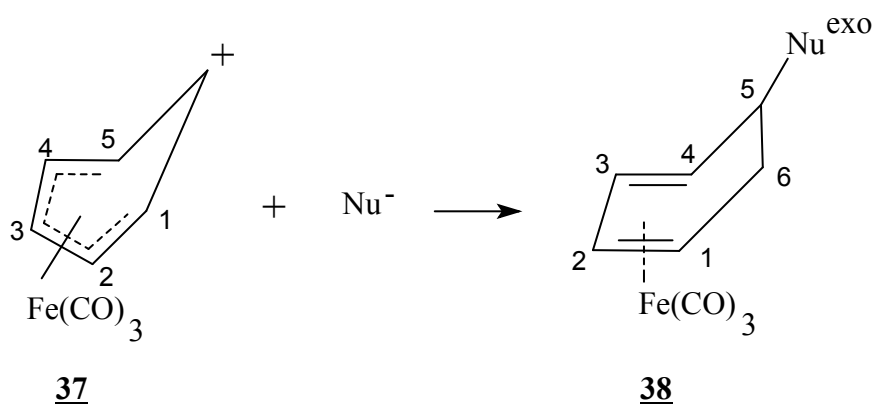
Schéma 15



Autrement dit , la stabilisation de certains carbocations hautement actifs ($C_6H_7^+$) par liaison de coordination avec un métal a grandement facilité l'étude des entités électrophiles. Ce domaine a suscité un grand intérêt chez de nombreux chercheurs ces deux dernières décennies grâce à ses potentielles applications en synthèse organique. En effet de nouvelles voies de synthèse ont été développées souvent inaccessibles par stratégie conventionnelle.

La réaction la plus étudiée a été l'addition des nucléophiles Nu^- sur les cations π -cyclohexadiényles fer tricarbonyles ³⁹⁻⁴¹ (schéma 16).

Schéma 16



Nucléophiles = amines , carbanions , phosphines , ...etc.

Plusieurs de ces procédés sont caractérisés par leur haute régio et stéréosélectivité. Ainsi , dans la réaction du schéma 15 , le complexe obtenu **38** par addition des nucléophiles Nu⁻ sur le cation 1-5-η-cyclohexadiényle fer tricarbonyle est de configuration exo.

1- Etude cinétique de l'addition nucléophile

Les nucléophiles peuvent réagir avec les électrophiles organométalliques (R-ML_n) selon plusieurs chemins mécanistiques dépendant de la nature du nucléophile , du solvant , de la température , etc. La première étude cinétique ⁴³ concerne l'attaque des β-dicétones (BH) tel que l'acétyl acétone (acacH) sur le système π-cyclohexadiényle fer tricarbonyle **41**.

Le mécanisme probable serait d'abord une première étape rapide de formation du carbanion B⁻ (acac⁻) , lequel réagit ensuite avec le complexe **41** dans une étape déterminante. La réaction est du 2^{ème} ordre⁴⁴ :

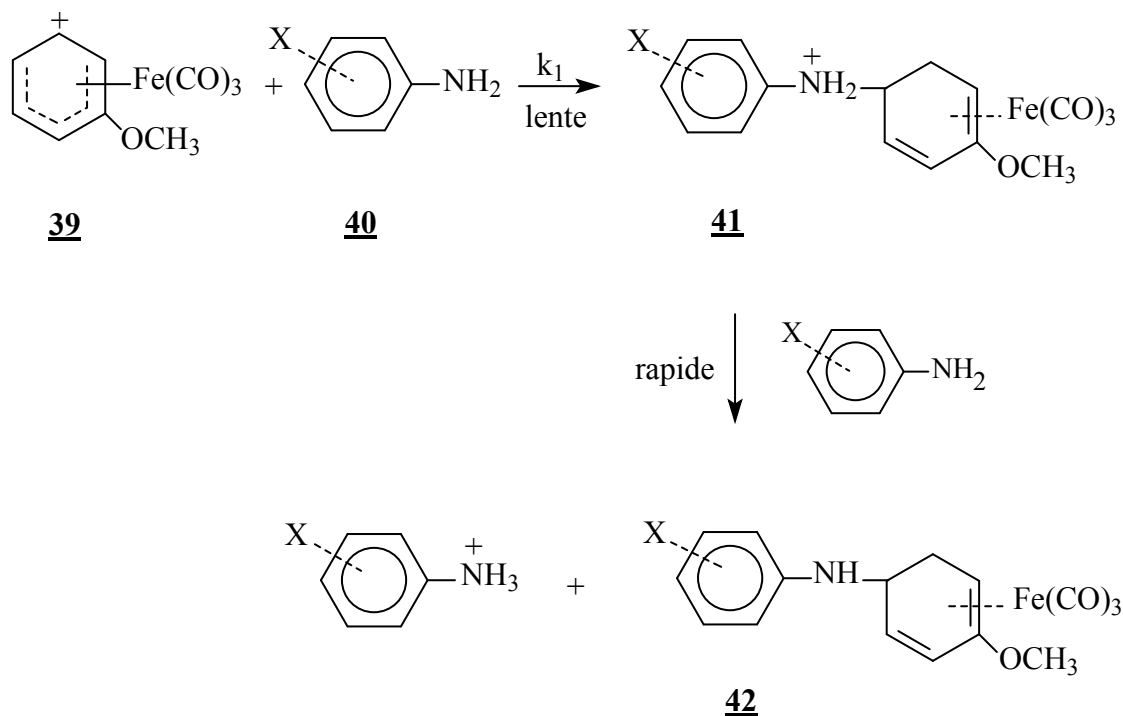
$$\text{Vitesse} = k_1[\text{complexe}][\text{B}^-]$$

Dans la réaction d'addition directe du nucléophile B⁻ = acac⁻ sur différents cations Fe(CO)₃(1-5-η-diényl)²⁸ , l'ordre de réactivité de ces derniers est C₆H₇⁺ > 2-MeOC₆H₆⁺ > C₇H₉⁺.

2- Facteurs contrôlant la réactivité de l'addition nucléophile

Les réactions des pyridines substituées ⁴⁵⁻⁴⁸ , des imidazoles substitués ^{49,50} et des amines primaires et secondaires (anilines ^{45,47,51} , acides amino-esters⁵² , morpholine⁵³) sur les cations diényles **33** s'effectuent en 2 étapes comme illustré dans le schéma 17. L'étude mécanistique et synthétique de ces réactions obéit à la loi du 2^{ème} ordre⁴⁸ avec k₋₁= 0 (pas d'équilibre).

Schéma 17



L'étape lente déterminante de la vitesse de la réaction est la formation des intermédiaires protonés **41** suivie d'une déprotonation rapide à l'aide d'une base catalyseur donnant le complexe neutre **42**.

La vitesse (k_1) et les paramètres d'activation (ΔH_1 et ΔS_1) de la réaction des amines sur les cations $\text{Fe}(\text{CO})_3(1\text{-}5\text{-}\eta\text{-diényl})^+$ dans CH_3CN à 0°C sont résumés dans le tableau 9.

Tableau 9

Vitesse (k_1) et les paramètres d'activation (ΔH_1 et ΔS_1) de la réaction des amines sur les cations $\text{Fe}(\text{CO})_3(1\text{-}5\text{-}\eta\text{-diényl})^+$.

Complexe	amine	k_1 ($\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$)	ΔH_1 (kJmol^{-1})	ΔS_1 ($\text{JK}^{-1}\text{mol}^{-1}$)	ref.
$\text{Fe}(\text{CO})_3(\text{C}_6\text{H}_7)^+$	morpholine	265000	-	-	61

	imidazole	4400	-	-	58
	2-méthyl imidazole	14000	-	-	58
	N- méthyl imidazole	10000	-	-	58
	2-amino propionate d'éthyle	5000	15	-120	52
	2-amino 2-benzyle acétate d'éthyle	2950	16	-120	60
	2-amino 2-phényl acétate d'éthyle	500	26	-100	60
	pyridine	2200	37	-45	56,57
	2-méthyl pyridine	770	31	- 74	57
	2,6-diméthyl pyridine	6.7	46	-61	57
	aniline	2000	-	-	59 ^b
	4-méthyl aniline	6500	24	-82	59 ^a
	2-méthyl aniline	690	35	-60	59 ^b
Fe(CO) ₃ (2-CH ₃ OC ₆ H ₆) ⁺	morpholine	55000	-	-	61
	Imidazole	380	33	-72	58
	2-amino propionate d'éthyle	700	23	-105	60
	2-amino 2-phényl acétate d'éthyle	500	26	-100	60
	2-amino 2-benzyle	610	24	-110	60

	acétate d'éthyle				
	pyridine	425	36	-63	57
	2-méthyl pyridine	96	40	-60	57
	aniline	370	17	-130	56,59 ^b
	4-méthyl aniline	1000	42	-32	59 ^a
	2-méthyl aniline	56	45	-45	59 ^b
Fe(CO) ₃ (C ₇ H ₉) ⁺	imidazole	93	-	-	58
	pyridine	140	26	-110	57
	2-méthyl pyridine	22	31	-100	57
	2,6-diméthyl pyridine	0.42	45	-88	57
	4-méthyl aniline	390	28	-93	59 ^a
	2-méthyl aniline	43	30	-100	59 ^b

Les additions des amines sur les cations Fe(CO)₃(1-5-η-diényl)⁺ montrent généralement de basses enthalpies d'activations (ΔH : 8-45 kJmole⁻¹) et de grandes variations d'entropie en valeurs négatives (ΔS : -32 à -150 JK⁻¹mole⁻¹) en accord avec le processus bimoléculaire.

L'ordre de réactivité des différents substrats fer diényles avec les amines est de nouveau observé : C₆H₇>2-CH₃OC₆H₆>C₇H₉. En effet les nucléophiles amines sont très réactifs avec le substrat C₆H₇ ; le rapport k₁(C₆H₇)/k₁(C₇H₉) est dans la marge 16-47.

Ritchie avait montré que , dans l'addition des donneurs nucléophiles (azote , oxygène) sur les carbocations libres la réactivité relative nucléophile est indépendante de l'électrophilie⁵⁴. Cet important résultat doit être aussi valable pour l'attaque des nucléophiles sur les organométalliques électrophiles. En effet les résultats du tableau 10 révèlent que les réactivités relatives des nucléophiles(électrophiles) sont indépendantes des électrophiles(nucléophiles) et vice versa.

Cependant , il y a des exceptions à cette règle empirique expliquée par la présence d'effets stériques . Ceci signifie que pour connaître la vitesse d'addition de différents nucléophiles , il suffit de la calculer pour seulement l'un d'eux et que les réactivités relatives des organométalliques électrophiles sont constantes (tableau 11).

Mathématiquement , les mesures de la réactivité peuvent être évaluées conformément à la relation de Ritchie⁵⁵ ($\log (k_1/k_0) = N$) dans laquelle N dépend uniquement du nucléophile et k_0 de l'électrophile. Pour les électrophiles organométalliques , les valeurs de N (notées N_{Fe}) sont calculées en utilisant comme substrat de référence $Fe(CO)_3(C_6H_7)^+$.

La constante de vitesse k_0 est calculée en prenant comme nucléophile de référence $P(OBu)_3$.

Tableau 10

Réactivité relative des nucléophiles pour l'addition sur les complexes diényles électrophiles^a.

nucléophile	N_{Fe}	N_M^b
$H_2NCH(Me)CO_2Et$	2.0	(2.0)
$H_2NCH(Ph)CO_2Et$	1.9	(1.9)
$H_2NCH(CH_2Ph)CO_2Et$	1.8	(1.8)
4-MeOC ₆ H ₄ NH ₂	2.6	2.6
4-MeC ₆ H ₄ NH ₂	2.4	2.4

2-MeC ₆ H ₄ NH ₂	1.4	1.3
3-MeC ₅ H ₄ N	2.4	2.4
2- MeC ₅ H ₄ N	1.4	1.4
C ₅ H ₅ N	1.9	2.0
2,6-(Me) ₂ C ₅ H ₃ N	-0.5	(-0.5)
C ₆ H ₅ NH ₂	1.9	1.9
Morpholine	3.5 ^c	(3.5) ^c
Imidazole	2.2	2.1
Pyrrole	-2.7	(-2.7)
Indole	-2.8	(-2.8)

^aCes valeurs sont calculées à 20°C dans l'acétone , l'acétonitrile , ou le nitrométhane comme solvant.

^bValeurs moyennes calculées pour différents électrophiles organométalliques.

Valeurs entre parenthèses valables seulement pour le substrat Fe(CO)₃ (C₆H₇)⁺.

^cValeurs calculées à 0°C.

Tableau 11

Relative électrophilie des cations $\text{Fe}(\text{CO})_3(1-5-\eta\text{-diényl})^+$ vis à vis des nucléophiles^d.

Complexe	relative k_1	ref
$\text{Fe}(\text{CO})_3(\text{C}_6\text{H}_7)^+$	2.8×10^7	58,59
$\text{Fe}(\text{CO})_3(2\text{-CH}_3\text{OC}_6\text{H}_6)^+$	5.3×10^6	58
$\text{Fe}(\text{CO})_3(\text{C}_7\text{H}_9)^+$	4.7×10^5	48,60

^dValeurs calculées en prenant PR_3 comme nucléophile.

Les études cinétiques précédentes permettent d'établir les relations structure-réactivité qui peuvent être utilisées pour prévoir et développer de nouvelles stratégies de synthèse. Le plus important point de l'étude mécanistique est l'observation concernant la non influence de l'électrophilie des organométalliques vis à vis de la réactivité relative des nucléophiles. En effet, en l'absence d'effet stérique l'ordre d'électrophilie est indépendant de la nucléophilie des N-donneurs. En outre, la même réactivité relative des nucléophiles est observée pour l'addition sur des cations libres. Ainsi les cations coordinés sont plus actifs que les cations libres; $\text{Fe}(\text{CO})_3(1-5-\eta\text{-C}_6\text{H}_7)^+$ est 10^4 fois plus actif que l'agent alkylant $\text{CH}_3\text{SO}_3\text{F}$ dit méthyl magique.

L'influence des solvants est faible sur la constance de vitesse pour la série acétone, acétonitrile et nitrométhane. Ainsi, la connaissance de cette quantité importante de facteurs contrôlant la réactivité des systèmes π -cyclohexadiényle fer tricarbonyle constitue un outil puissant à notre disposition pour la prédiction et le développement de nouveaux procédés synthétiques.

En conclusion , cette étude mécanistique de l'addition de N-donneur nucléophile sur le système π -cyclohexadiényle fer tricarbonyle a montré que :

- a) La réaction est de type bimoléculaire.
- b) L'addition nucléophile est l'étape déterminante de la vitesse.
- c) La basicité nucléophile est importante du point de vue mécanistique.
- d) En l'absence d'effets stériques , la réactivité relative des nucléophiles est indépendante des substrats électrophiles et vice versa.

Ce travail considérable montre que des progrès significatifs ont été faits dans le domaine organométallique^{60,61} surtout du point de vue mécanistique dans le but d'établir les relations structure-activité qui sont d'une grande utilité en matière de prévision et de développement de nouvelles stratégies de synthèse.

CHAPITRE II : Les marqueurs organométalliques à base de fer

Introduction

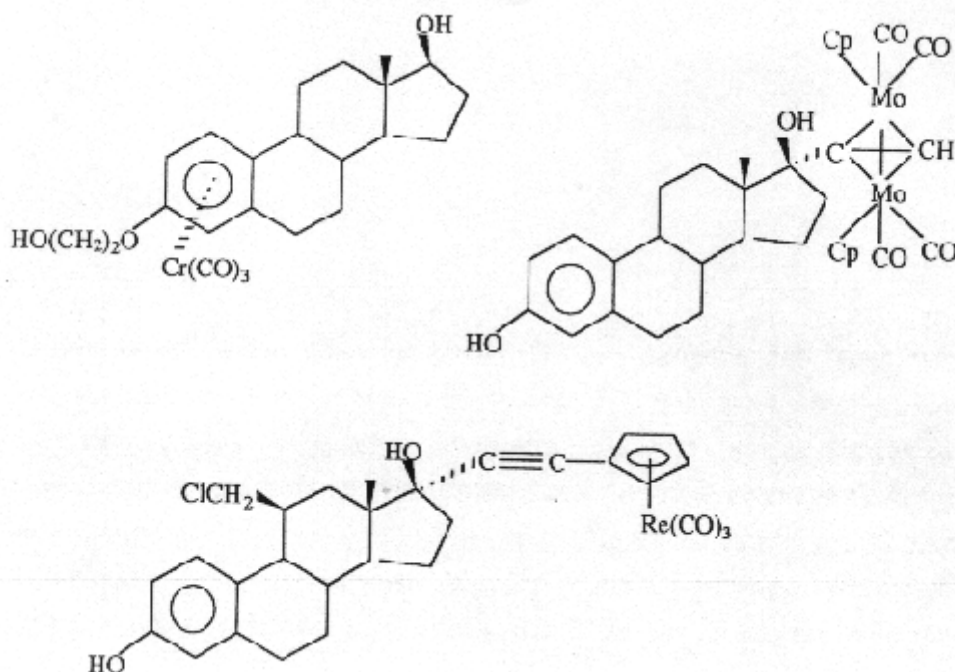
L'utilisation des complexes métal-carbonyles comme sondes froides selon un nouveau concept, utilisant la spectroscopie IR à Transformée de Fourier, a été récemment mise en œuvre par l'équipe du Professeur G. Jaouen⁸⁵. Cette technique d'analyse est basée sur le couplage covalent d'un ligand organique avec un fragment métal-carbonyle de transition.

En effet, les complexes de métaux carbonyles possèdent plusieurs ligands C≡O dont la région des fréquences de vibration en spectroscopie IR (1800 et 2200 cm⁻¹) est transparente aux vibrations des ligands organiques OH, NH, CH, CO, C-C, C=C d'où la possibilité d'entreprendre des études quantitatives (dosage).

Conformément aux prévisions de la théorie des groupes, deux modes de vibrations sont attendus pour les ligands C≡O en symétrie C_{3v}, un mode symétrique $\nu_{\text{sym}}(\text{C}\equiv\text{O})$ noté a₁ et un mode asymétrique $\nu_{\text{asym}}(\text{C}\equiv\text{O})$ noté e. Ce dernier étant dégénéré donne deux bandes distinctes, particulièrement avec un support KBr.

La faisabilité de cette approche a été démontrée pour le marquage de l'oestradiol avec des complexes bimétalliques à base de Mo (figure 1) qui ont une bonne affinité pour le récepteur de l'oestradiol d'une préparation cytosolique d'utérus de brebis⁶⁷. Le récepteur ainsi lié par couplage covalent est détecté par spectroscopie FT-IR grâce à ses bandes carbonyles associées aux vibrations d'élongation $\nu\text{C}\equiv\text{O}$.

Figure 1



Cette méthode a été appliquée avec succès pour d'autres complexes à base de $\text{Cr}(\text{CO})_3$ ⁸⁶.

Une méthode d'immunos dosage baptisée "Carbonyl Metallo Immuno Assay" (CMIA) a été aussi développée avec succès sur le même concept^{87,88}. Ce qui a nécessité le marquage de médicaments par des complexes métallo-carbonyles.

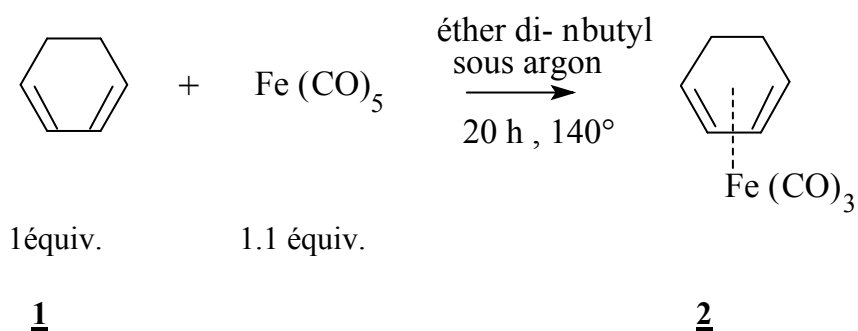
Notre travail s'est porté sur la préparation des complexes fer carbonyles pour le marquage d'acides aminés, de peptides et de protéines.

1- Préparation du complexe cyclohexa-1,3-diène fer tricarbonyle

On trouve dans la littérature des indications sur la réaction de $\text{Fe}(\text{CO})_5$ avec le cyclohexa-1,3-diène dans le benzène sous irradiation par les rayons ultra violets^{62,63}. Celle-ci aboutit à la formation d'un complexe de formule empirique $\text{C}_6\text{H}_8 \text{Fe}(\text{CO})_3$.

Pour des raisons de restrictions dans l'utilisation de certains produits chimiques à risques dont la finalité est la préservation de la santé et de la qualité de l'environnement, nous avons utilisé le n-di-butyl éther comme solvant et opéré par voie thermique. Ainsi, l'addition de 1.1 équivalent fer pentacarbonyle sur 1 équivalent cyclohexa-1,3-diène **1** sous atmosphère inerte conduit après 20 h de reflux dans l'éther di-nbutyl au complexe cyclohexa-1,3-diène fer tricarbonyle **2** avec un rendement de 65% (schéma 1).

Schéma 1

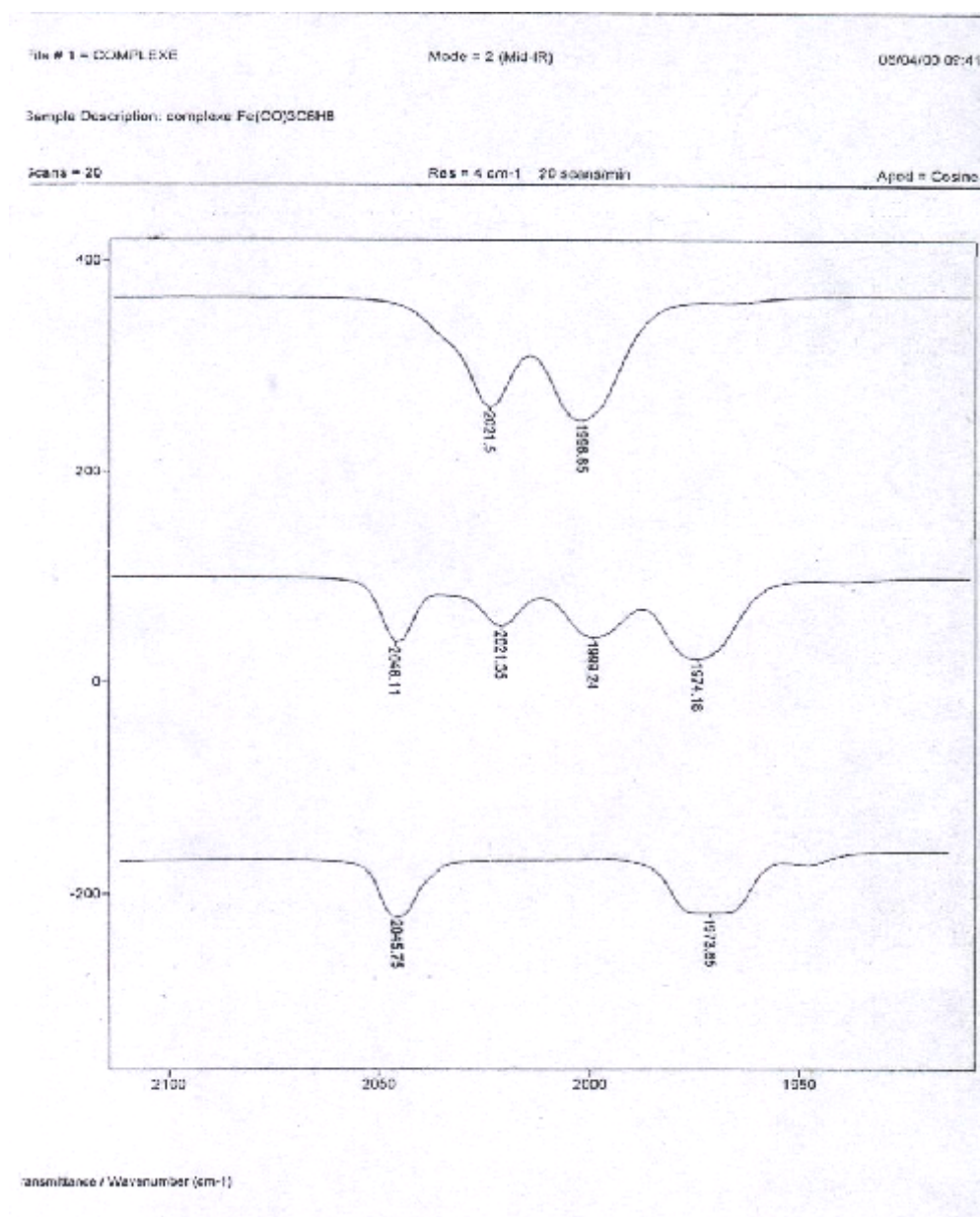


R^{dt} : 65%

IR (CH₃CN) : 2 bandes $\nu_{C\equiv O}$ à 1974 et 2046 cm⁻¹

Cette réaction de complexation du cyclohexa-1,3-diène **1** avec Fe(CO)₅ a été suivie par spectroscopie IR (spectre 1).

Spectre 1

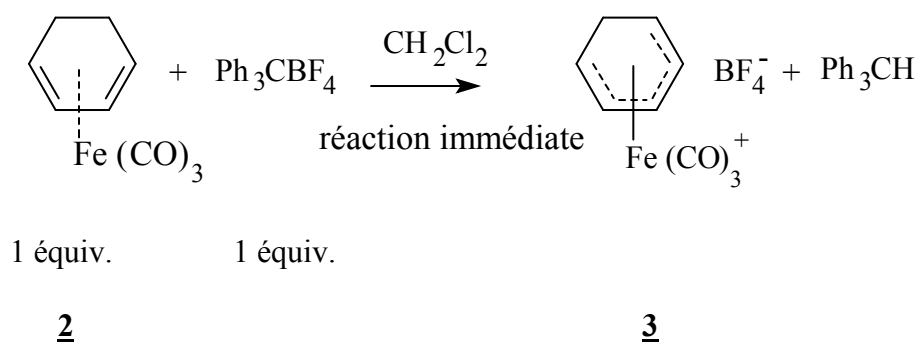


Au départ de la réaction, le spectre IR montre deux bandes $\nu_{\text{C}\equiv\text{O}}$ caractéristiques des carbonyles de $\text{Fe}(\text{CO})_5$ à 2021 et 1999 cm^{-1} . Après 6 heures de reflux à 140°C dans le di-nbutyl éther, l'intensité de ces deux bandes diminue et on observe l'apparition deux autres bandes à 2046 et 1974 cm^{-1} relatives aux vibrations $\nu_{\text{C}\equiv\text{O}}$ du complexe cyclohexa-1,3-diène fer tricarbonyle **2** déjà formé. Après 20h de reflux, les bandes $\nu_{\text{C}\equiv\text{O}}$ de $\text{Fe}(\text{CO})_5$ disparaissent complètement au profit des seules bandes $\nu_{\text{C}\equiv\text{O}}$ du complexe **2**.

2- Préparation du sel tétrafluoroborate (1-5-η-cyclohexadiényl) fer tricarbonyle

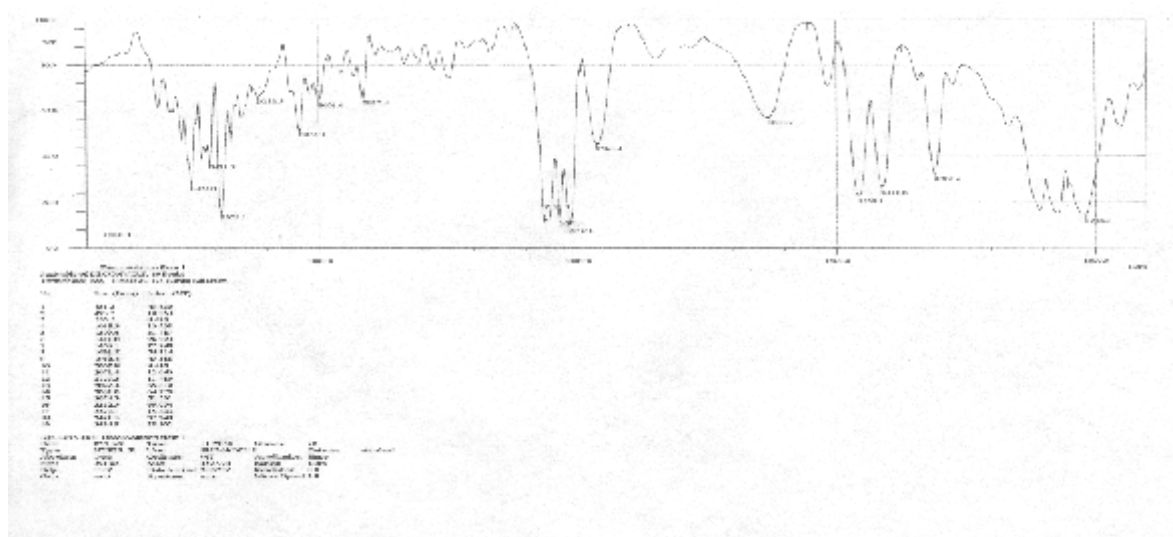
La réaction du complexe cyclohexa-1,3-diène fer tricarbonyle **2** avec le tétrafluoroborate triphényl carbénium dans CH₂Cl₂ donne, par élimination d'hydrure, le sel tétrafluoroborate (1-5-η-cyclohexadiényl) fer tricarbonyle **3** avec un rendement de 70% (schéma 2).

Schéma 2



Le spectre IR du complexe **3** présente, en plus des bandes carbonyles $\nu\text{C}\equiv\text{O}$ à 2032, 2071 et 2129 cm⁻¹, des bandes à 1018, 1074 et 1110 cm⁻¹ caractéristiques de l'anion BF₄⁻ (spectre 2)

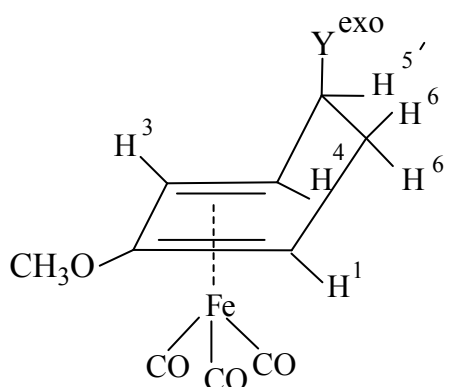
Spectre 2



Nous pouvons concevoir le mode de liaison du ligand π -cyclohexadiényle ⁶⁴ comme étant un système C_5 c'est à dire qu'il n'y a que 5 électrons qui interviennent d'une manière effective dans la formation des liaisons métal-ligand organique du sel **3**.

Le cation cyclohexadiényl fer tricarbonyle **3** réagit avec les nucléophiles (amines, phosphines, carbanions, thiols etc.) en formant des liaisons σ C_5-Y ($Y = N, P, C, S$) avec une très haute régiosélectivité (sur le carbone 5) et une totale stéréosélectivité⁶⁵ (configuration exo) (schéma 3).

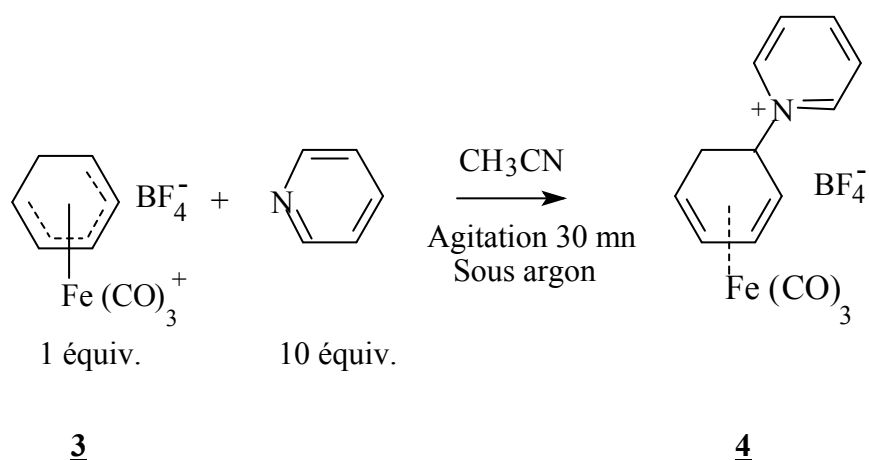
Schéma 3



2- Préparation du complexe tétrafluoroborate 1-4- η -5-pyridinio cyclohexa-1,3-diène fer tricarbonyle

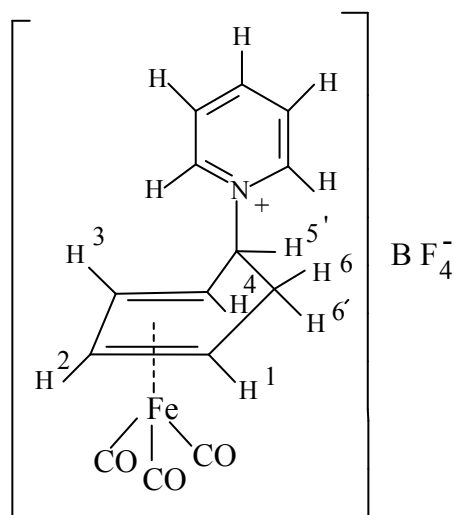
L'addition d'un excès de pyridine fraîchement distillée sur le sel tétrafluoroborate (1-5- η -cyclohexadiényl) fer tricarbonyle **3** dans CH_3CN conduit au complexe tétrafluoroborate 1-4- η -5-pyridinio cyclohexa-1,3-diène fer tricarbonyle **4** avec un rendement de 86 % (schéma 4).

Schéma 4



Cette addition, s'effectuant sur le carbone 5 et du côté opposé à l'entité $\text{Fe}(\text{CO})_3$, donne le complexe **4** de configuration exo thermodynamiquement stable; celle-ci est régio et stéréosélective (schéma 5).

Schéma 5

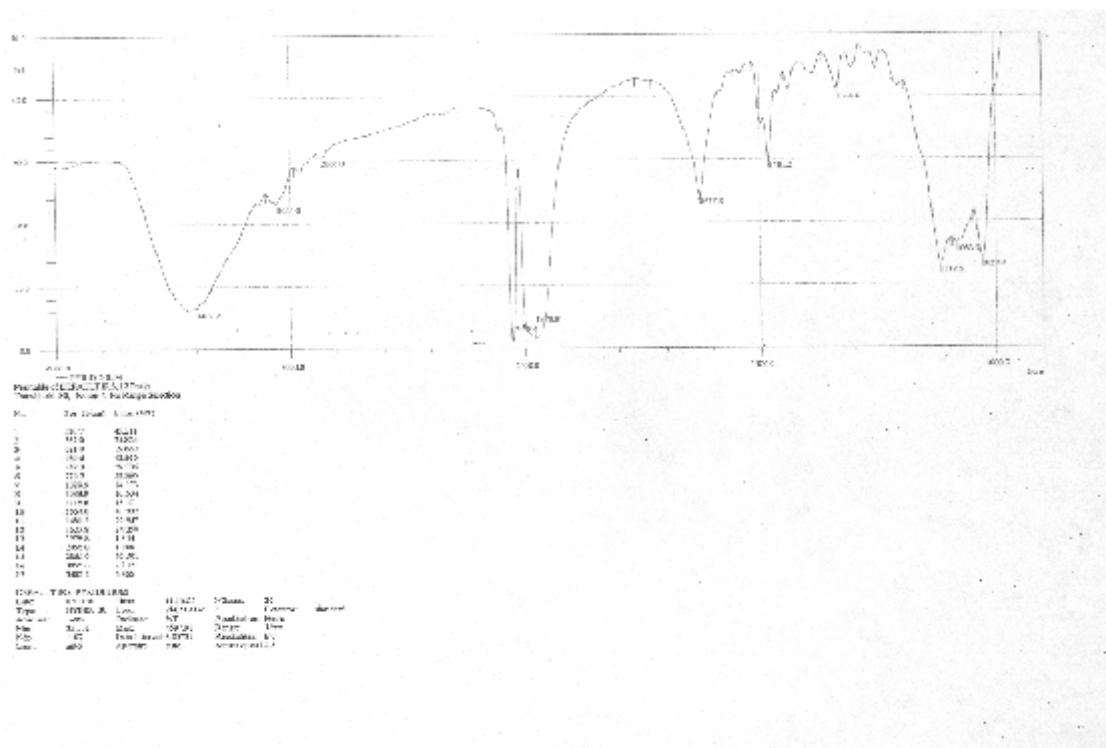


4

Le complexe **4** est d'une très grande stabilité pouvant même être utilisé en milieu aqueux dans les réactions de couplage avec les protéines⁶⁶. Le ligand organique pyridine constitue un très bon groupement partant favorisant les réactions de couplage avec les macromolécules polyfonctionnelles.

Le spectre IR de ce complexe présente, en plus des 2 bandes $\nu\text{C}\equiv\text{O}$ à 1979 et 2056 cm^{-1} et les bandes à 1030, 1084 et 1118 cm^{-1} de l'anion BF_4^- (spectre 3).

Spectre 3



Les caractéristiques spectroscopiques en RMN ^1H du complexe pyridinium **4** sont consignées dans le tableau 1.

Tableau 1

Données spectroscopiques en RMN ^1H du complexe pyridinium **4**.

RMN ^1H (CD_3COCD_3 , 250MHz) :

$\delta(\text{ppm} / \text{TMS})$: 2.00 (m, 1H, H^6), 2.90 (m, 1H, H^6),

3.35 (chevauchement de multiplets, 2H, H^1 et H^4),

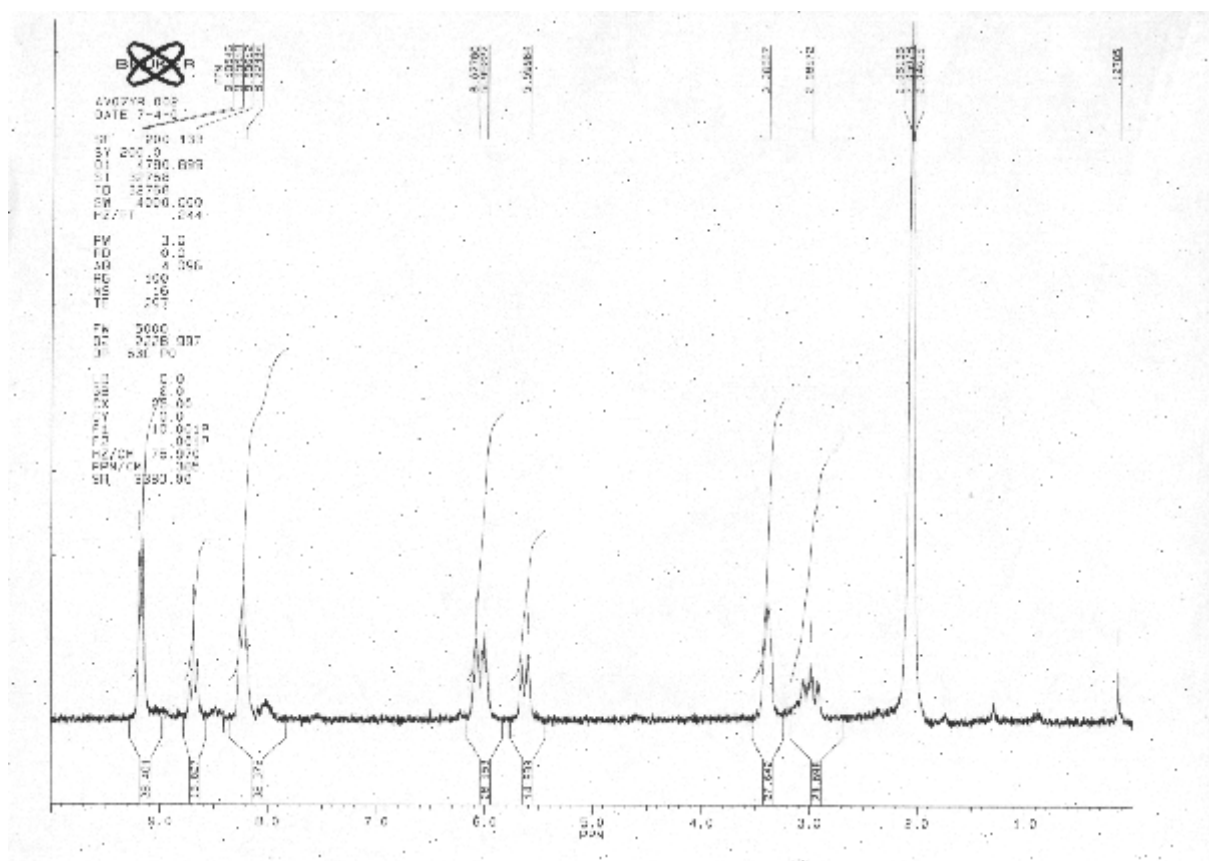
5.55(m, 1H, H^5), 6.00 (chevauchement de multiplets, H^2 et H^3)

8.18 (t, 2H arom.), 8.62 (t, 1H arom.), 9.10 (d, 2H arom.)

Le spectre RMN ^1H de ce complexe montre la résonance des protons aromatiques dans la zone de déblindage ($\delta > 8 \text{ ppm}$) et un déplacement chimique des autres protons vers les hauts champs ($\delta < 6 \text{ ppm}$).

Les deux protons du méthylène $_6\text{CH}_2$ ne sont pas équivalents^{32b}; en effet H_6 sort à 2,00 ppm sous forme d'un multiplet masqué par le solvant CH_3COCH_3 et $\text{H}^{6'}$ résonne sous forme d'un autre multiplet à 2.90 ppm (spectre 4).

Spectre 4



le complexe tétrafluoroborate 1-4- η -5-pyridinio-cyclohexa-1,3-diène fer tricarbonyl **4**, précurseur du cation très réactif $[\text{Fe}(\text{CO})_3(1-5-\eta\text{C}_6\text{H}_7)]^+$, constitue une sonde pour le marquage des protéines. En effet, la détection des vibrations $\nu\text{C}\equiv\text{O}$ des carbonyles terminaux, dans la région $1800\text{-}2200\text{ cm}^{-1}$, s'effectue aisément par spectroscopie IR à Transformée de Fourier (FT-IR).

CHAPITRE III : Réactions de couplage du complexe marqueur fer tricarbonyle avec différents groupements fonctionnels des acides aminés

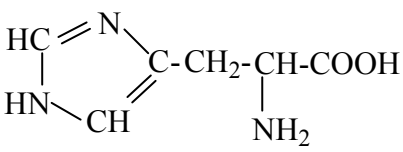
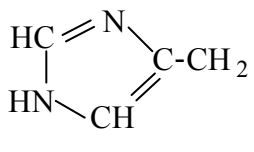
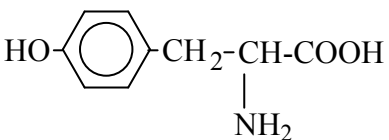
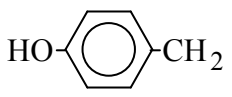
Introduction

Certains acides aminés possèdent, en plus du site nucléophile (-NH₂) lié à l'atome de carbone voisin d'un groupe acide (-COOH), d'autres sites nucléophiles tels que (-SH) dans la cystéine, (-N=) du groupe imidazole dans l'histidine et (-NH₂) d'une chaîne aliphatique dans la lysine.

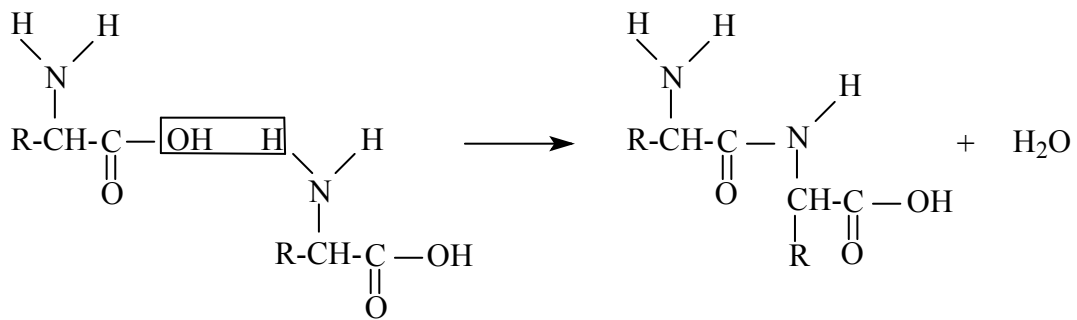
C'est le radical R qui différencie les acides aminés les uns des autres (tableau 2).

Tableau 2

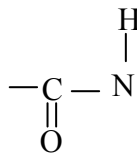
Sites nucléophiles de différents acides aminés.

Acide aminé	formule semi développée	radical R	site nucléophile
Lysine	$\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_4-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$	(CH ₂) ₄ -NH ₂	-NH ₂
Cystéine	$\text{HS}-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$	CH ₂ -SH	-SH
Histidine			-N=
Tyrosine			-OH
Acide aspartique	$\text{HOOC}-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$	CH ₂ -COOH	-COO ⁻

Les liaisons entre acides aminés s'effectuent par l'intermédiaire des groupes NH_2 et COOH de la façon suivante :



Le groupement d'atomes caractéristiques de la liaison, dite liaison peptidique est le suivant :



Les protéines, formées par l'assemblage de très nombreux peptides sont donc des polypeptides. Les deux extrémités de ces longues chaînes sont constituées d'un groupe NH_2 libre et d'un groupe COOH libre.

Toutes les protéines ne sont pas formées à partir des 20 acides aminés. Les possibilités d'agencement des acides aminés les uns par rapport aux autres sont ainsi pratiquement infinies (par exemple avec seulement trois acides aminés on peut avoir les combinaisons : cys-lys-his ; cys-his-lys ; lys-cys-his ; lys-his-cys ; his-cys-lys ; his-lys-cys) et pour une molécule qui ne serait formée que de 20 acides aminés tous différents, le nombre de combinaisons possibles est $20!$ ($1 \times 2 \times 3 \times 4 \dots \times 20$) soit environ 2.10^{18} .

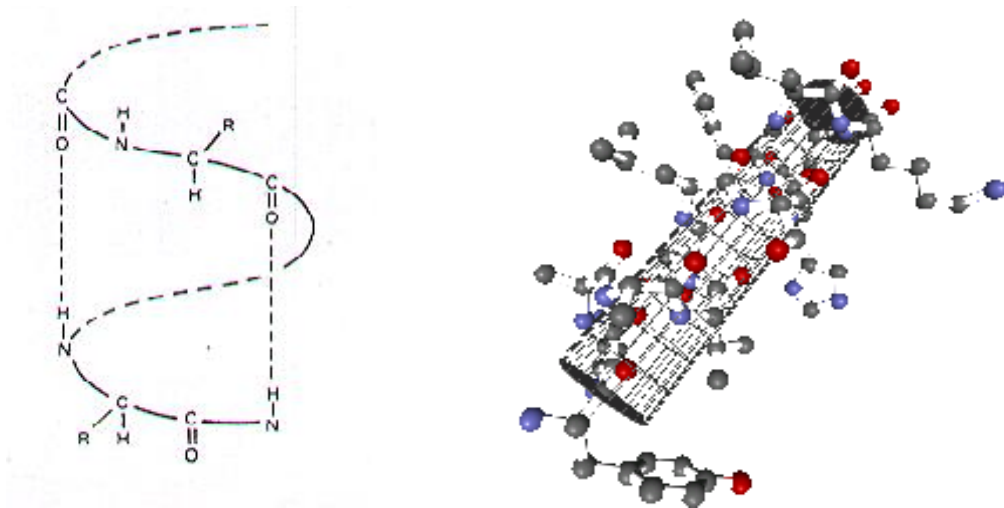
Chacun de ces composés a la même composition en acides aminés et il ne s'agit somme toute que de molécules relativement petites par rapport aux protéines qui peuvent en comporter une centaine ou plus.

Les radicaux R ne sont pas pris dans la liaison et les atomes qui les forment pourront donc interagir entre eux du fait de la structure tridimensionnelle adoptée par chaque protéine. En effet, les formules figurées plus haut sont des molécules planes qui ne représentent qu'une vue commode mais simplifiée de l'architecture des acides aminés.

En réalité, toute molécule adopte une structure dans l'espace qui lui est imposée par la géométrie des liaisons qui s'établissent entre les atomes. En particulier chaque atome de carbone, avec les quatre liaisons qu'il peut former, s'inscrit dans un tétraèdre régulier; les angles formés avec le carbone étant tous égaux à $109,5^\circ$.

De ce fait, les chaînes d'acides aminés tendent à adopter une structure en hélice plus ou moins régulière, de ce type :

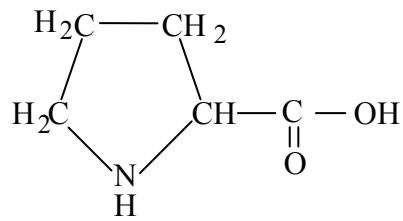
Hélice



Cette structure est maintenue en place grâce en grande partie aux liaisons hydrogènes qui s'établissent entre le groupe d'une liaison peptidique, et le groupe d'une autre liaison peptidique située plus loin dans la chaîne.

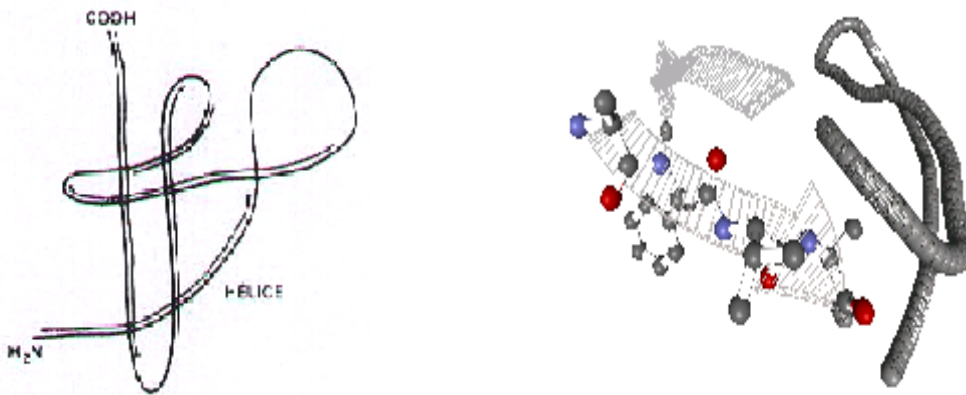
On remarque que les radicaux R, caractéristiques de chaque acide aminé, sont situés à l'extérieur de la structure : ils peuvent interagir entre eux avec des molécules ou des ions du milieu où se trouve la protéine. Cependant, les protéines ne sont pas formées que de chaînes hélicoïdales. En effet si toutes les protéines l'étaient, on aurait toujours affaire à des molécules filiformes. Cela est vrai pour certaines d'entre elles, mais nombre de protéines ont au contraire une forme globulaire. Ceci provient du fait que l'hélice est interrompue à certains endroits, en particulier lorsqu'on rencontre la proline, le seul acide aminé ne possédant pas le groupe NH_2 en α du groupe COOH , et que la chaîne peut se relier sur elle-même.

La Proline



Ainsi par exemple, la myoglobine, protéine contenant du fer, que l'on trouve dans le muscle a schématiquement la forme illustrée ci dessous :

Forme globulaire de l'hélice



Enfin, certaines protéines sont formées de sous-unités : deux ou plusieurs chaînes d'acides aminés sont alors assemblées entre elles, non par des liaisons covalentes mais par des liaisons de faible énergie, comme les liaisons hydrogène.

Qu'une protéine soit formée d'une seule ou de plusieurs chaînes, c'est toujours la forme qu'elle adopte, sa conformation, qui ménage un endroit particulier, un site actif, qui lui confère ses propriétés biologiques.

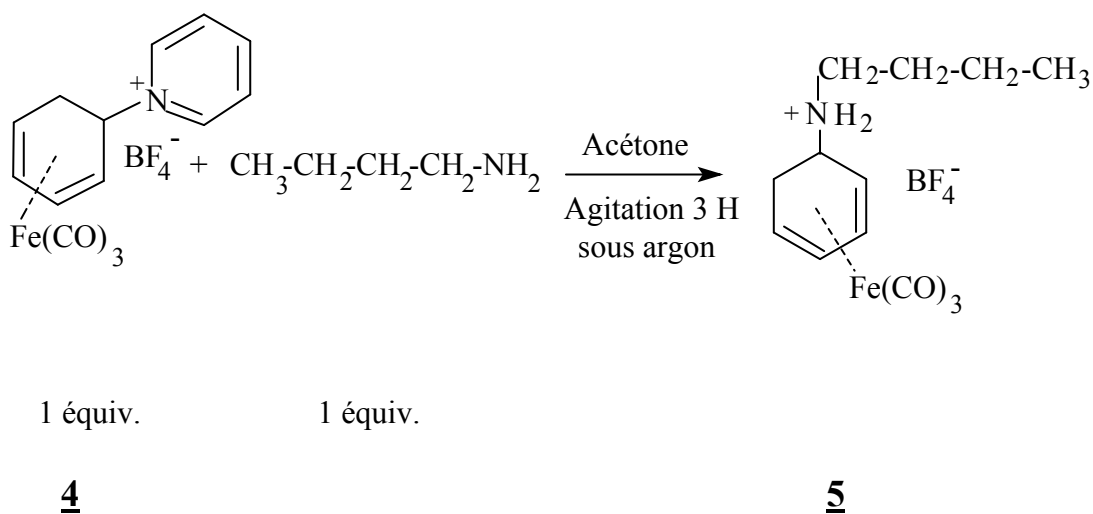
Plusieurs stratégies ont été développées pour introduire l'unité métal carbonyle sur les molécules polyfonctionnelles⁶⁷. La plupart d'elles se traduit par l'addition de sites nucléophiles portés par les macromolécules sur des marqueurs à caractère électrophile.

Dans notre travail, nous nous sommes intéressés aux réactions de couplage des complexes fer tricarbonyles avec les sites nucléophiles $-NH_2$, $-SH$ et $-N=C$ des ligands organiques respectifs : n-butylamine (analogue à la lysine), histamine (analogue à l'histidine) et cystéine.

1- Réaction de couplage du complexe marqueur fer tricarbonyle avec la n-butylamine

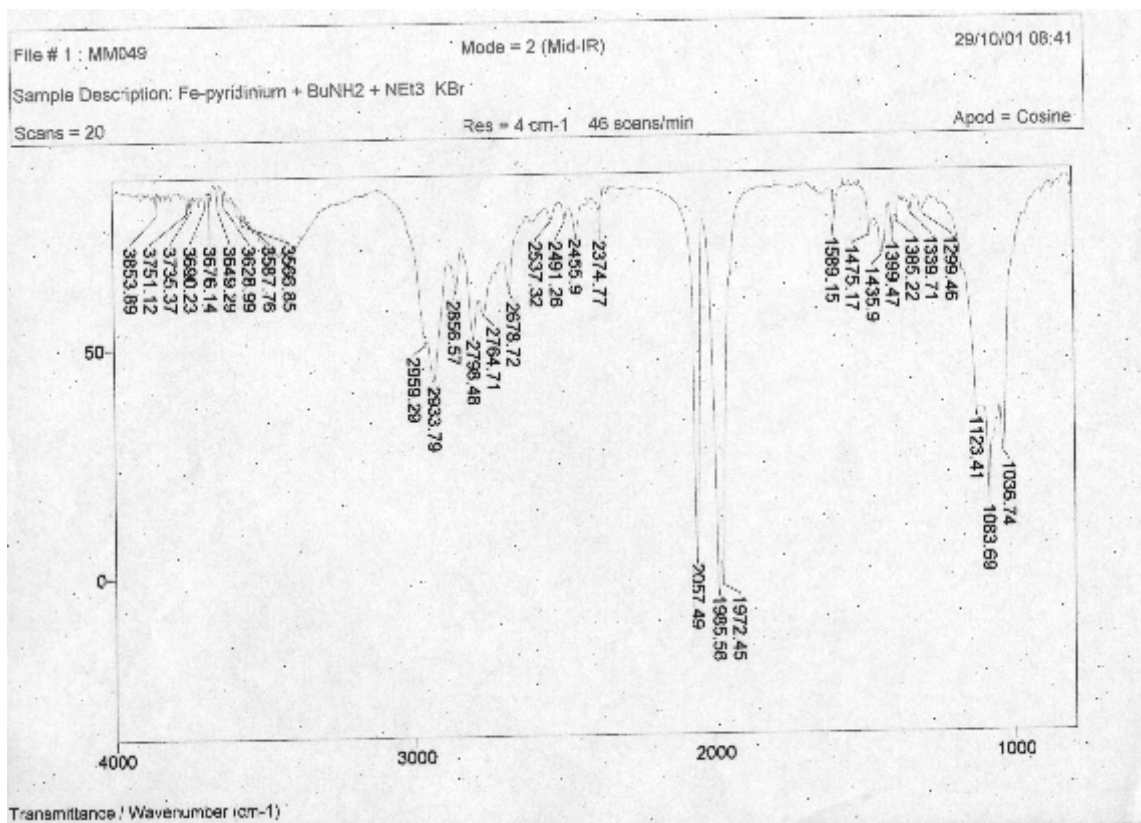
L'addition de la n-butylamine sur le complexe tétrafluoroborate 1- 4- η -5-pyridinio-cyclohexa-1,3-diène fer tricarbonyle **4**, précurseur du cation marqueur $[Fe(CO)_3(1-5-\eta C_6H_7)]^+$ conduit régio et stéréosélectivement au complexe tétrafluoroborate 1-4 η -5-butylamino cyclohexa-1,3- diène fer tricarbonyle **5** avec un rendement de 85% (schéma 6).

Schéma 6



Le complexe **5** présente en spectroscopie IR en plus des trois bandes carbonyles à 1972 , 1985 et 2057 cm^{-1} , les bandes de l'anion BF_4^- à 1037 , 1084 et 1123 cm^{-1} (spectre 5).

Spectre 5



Les données spectroscopiques RMN ^1H caractéristiques de ce complexe sont rassemblées dans le tableau 3.

Tableau 3

Données spectroscopiques RMN ^1H du complexe 5.

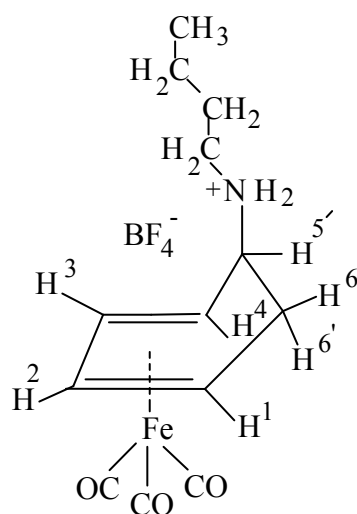
RMN ^1H (CD_3COCD_3 , 250MHz) :

δ (ppm / TMS) :

- 0.91 (3H, t 7.2 Hz, CH_3), 1.40 (2H, sextuplet 7.6 Hz, γCH_2),
- 1.72 (2H, quintuplet 7.6 Hz, βCH_2), 1.90 (1H, dt 16.5 et 3.6 Hz, H^6),
- 2.49 (1H, ddd 4, 10.7 et 15.8 Hz, $\text{H}^{6'}$), 3.15-3.26 (4H, m, H^1 , H^4 et αCH_2),
- 4.01 (1H, dt 10.5 et 3.6 Hz, $\text{H}^{5'}$), 5.78 (1H, t 4.8 Hz, H^3),
- 5.84 (1H, t 5.9 Hz, H^2).

La faible constante de couplage ($J=3.6$ Hz) entre H_5 (équat.) et H_6 (axial) confirme la configuration exo du ligand organique lié au carbone 5 (schéma 7).

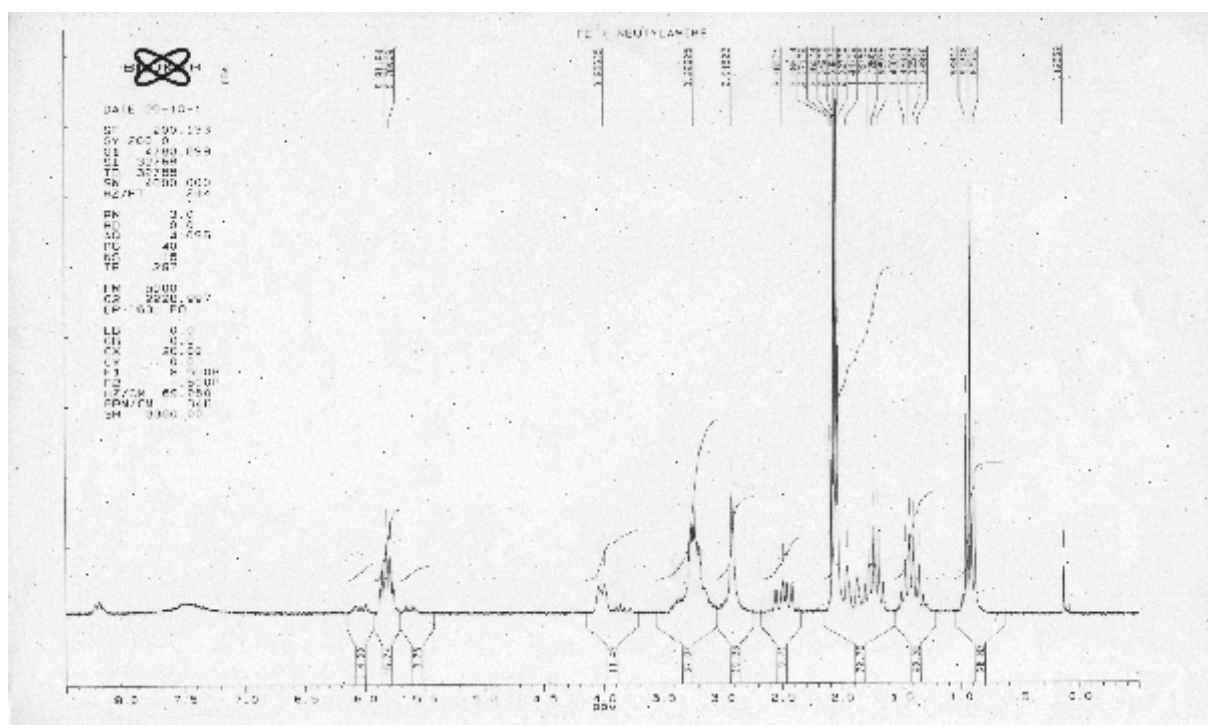
Schéma 7



5

Les deux protons H⁶ et H^{6'} qui ne sont pas équivalents résonnent vers les champs forts respectivement à 1.90 ppm sous forme d'un doublet détriplé avec $J_{6,6'} = 16,5$ Hz et à 2.49 ppm sous forme d'un doublet dédoublé dédoublé avec $J_{6,6'} = 15,8$ Hz (spectre 6).

Spectre 6



Les données de l'analyse élémentaire de ce complexe sont conformes aux valeurs calculées :

Masse moléculaire ($C_{13}H_{18}BF_4FeNO_3$) : 378.66

Eléments dosés :

Calculés : C (41.23%) , H (4.75%) , N (3.70%) .

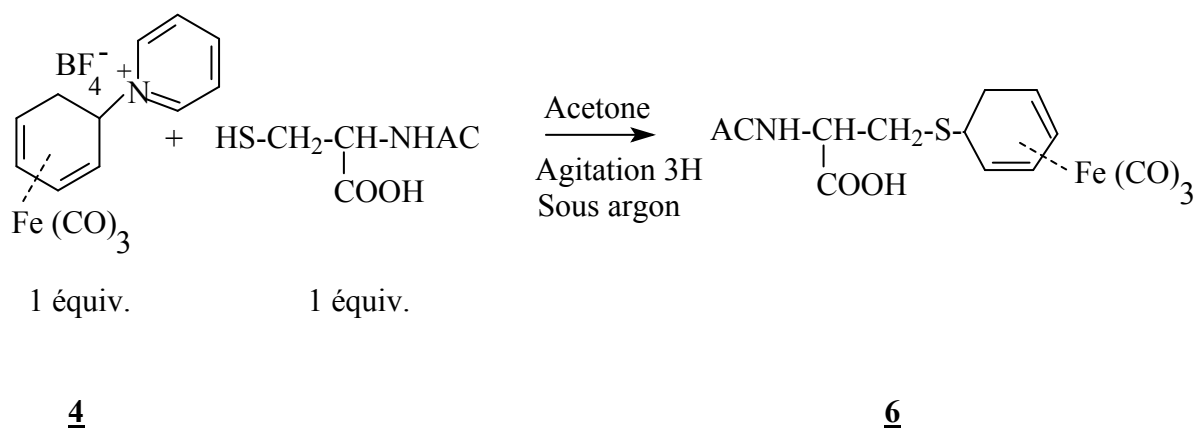
Trouvés : C (41.08%) , H (4.92%) , N (3.65%) .

En conclusion , les amines aliphatiques primaires (ϵ -amino des acides aminés lysines constitutifs des protéines) pouvaient réagir avec le complexe marqueur **4** pour donner des complexes fer carbonyle protéines facilement détectables par spectroscopie IR à Transformée de Fourier (FT - IR) ⁶⁸ dans la région $1800-2200\text{ cm}^{-1}$.

2- Réaction de couplage du complexe marqueur fer tricarbonyle avec la N-acétyl cystéine

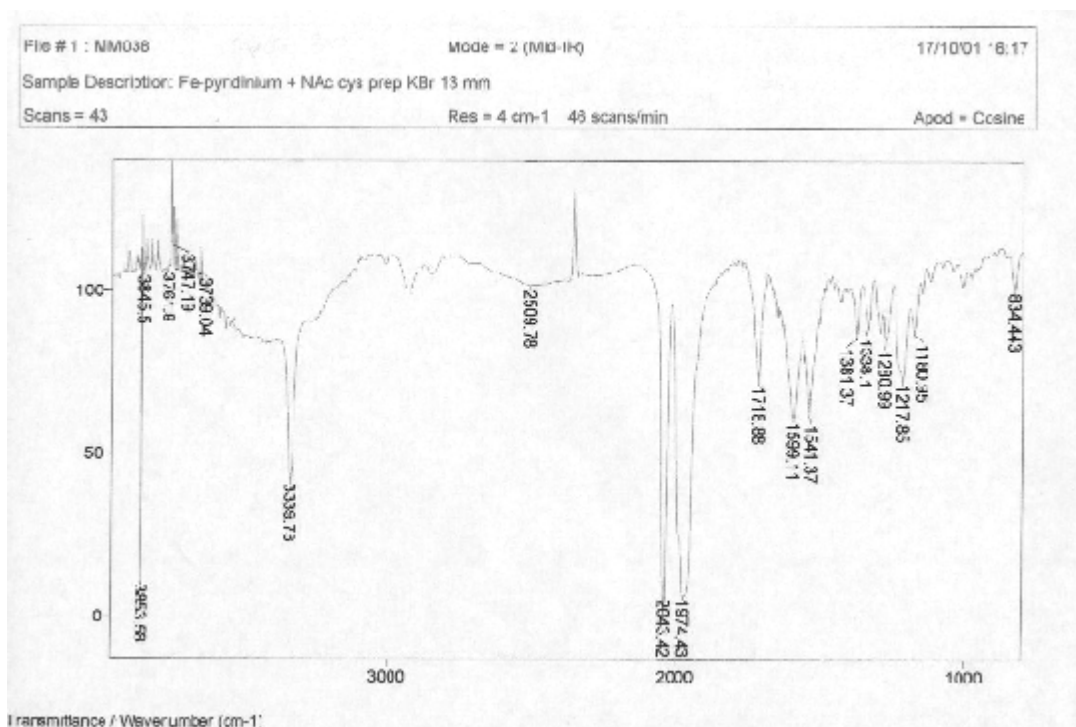
La réaction du nucléophile thiol (-SH) du ligand organique cystéine avec le complexe tétrafluoroborate 1-4- η -5-pyridinio cyclohexa-1,3-diène fer tricarbonyle **4** , un précurseur du cation marqueur $[Fe(CO)_3(1-5-\eta C_6H_7)]^+$ donne régio et stéréosélectivement le complexe tétrafluoroborate 1-4 η -5-N-acétyl cysténio cyclohexa-1,3-diène fer tricarbonyle **6** avec un rendement de 62% (schéma 8).

Schéma 8



Le spectre IR (spectre 7) du complexe **6** ne présente pas de bandes dans la région 1060 cm^{-1} indiquant l'absence de l'anion BF_4^- et confirme la forme déprotonée du complexe **6**. Cependant il apparaît en plus de la bande $\nu(\text{N-H})$ à 3340 cm^{-1} , deux bandes carbonyles terminales à 1974 et 2043 cm^{-1} , une bande carbonyle CO acide à 1719 cm^{-1} et deux autres bandes carbonyles CO amide à 1541 et 1599 cm^{-1} .

Spectre 7



Les données spectroscopiques de RMN^1H caractéristiques de ce complexe sont résumées dans le tableau 4.

Tableau 4

Données spectroscopiques RMN^1H du complexe **6**.

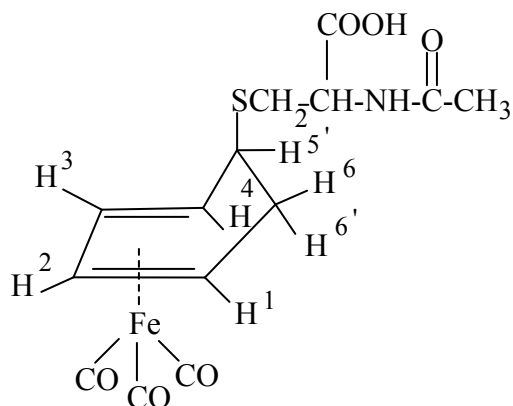
RMN^1H (CD_3COCD_3 , 250MHz) :

$\delta(\text{ppm} / \text{TMS})$:

7.34 (1H, br s, NH), 5.63 (1H, t 4.8 Hz, H^2), 5.54 (1H, t 5.7 Hz, H^3),
 4.63 (1H, m, H^a), 3.40 (2H, m, H^5 et H^1), 3.21 (1H, m, H^4),
 3.09 (1H, dd 4.8 et 13.8 Hz, H^b), 2.85 (1H, dd 7.2 et 13.8 Hz, H^b)
 2.29 (1H, ddd 3.6, 10.5 et 15 Hz, H^6), 1.93 (3H, s, CH_3), 1.56 (1H, dt 15.6 et 3,4 Hz, H^6)

La faible constante de couplage entre les protons $H^{5'_{\text{eq}}}$ et $H^{6'_{\text{ax}}}$ du complexe **6** (3,4 Hz) confirme la configuration exo du ligand organique attaché au carbone 5 (schéma 9).

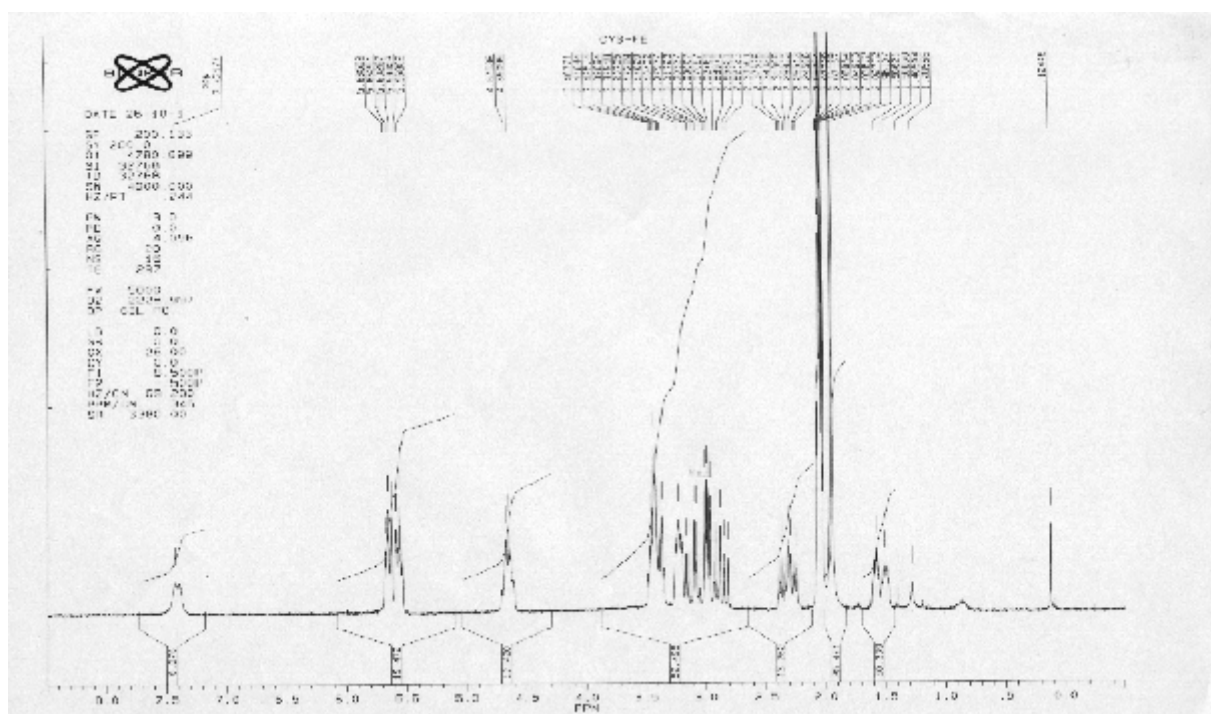
Schéma 9



6

Les deux protons non équivalents H^6 et $H^{6'}$ du complexe **6** sortent un peu plus blindés que ceux du complexe **5** respectivement à 1,56 ppm sous forme d'un doublet détripilé avec $J_{6,6'} = 15,6$ Hz et à 2,29 ppm sous forme d'un doublet dédoublé dédoublé avec $J_{6,6'} = 15$ Hz (spectre 8).

Spectre 8



Les données de l'analyse élémentaire de ce complexe sont conformes aux valeurs calculées :

Masse moléculaire ($C_{14}H_{15}FeN_3O_6S$) : 381.19

Eléments dosés :

Calculés : C (44.07%) , H (3.93%) , N (3.67%) .

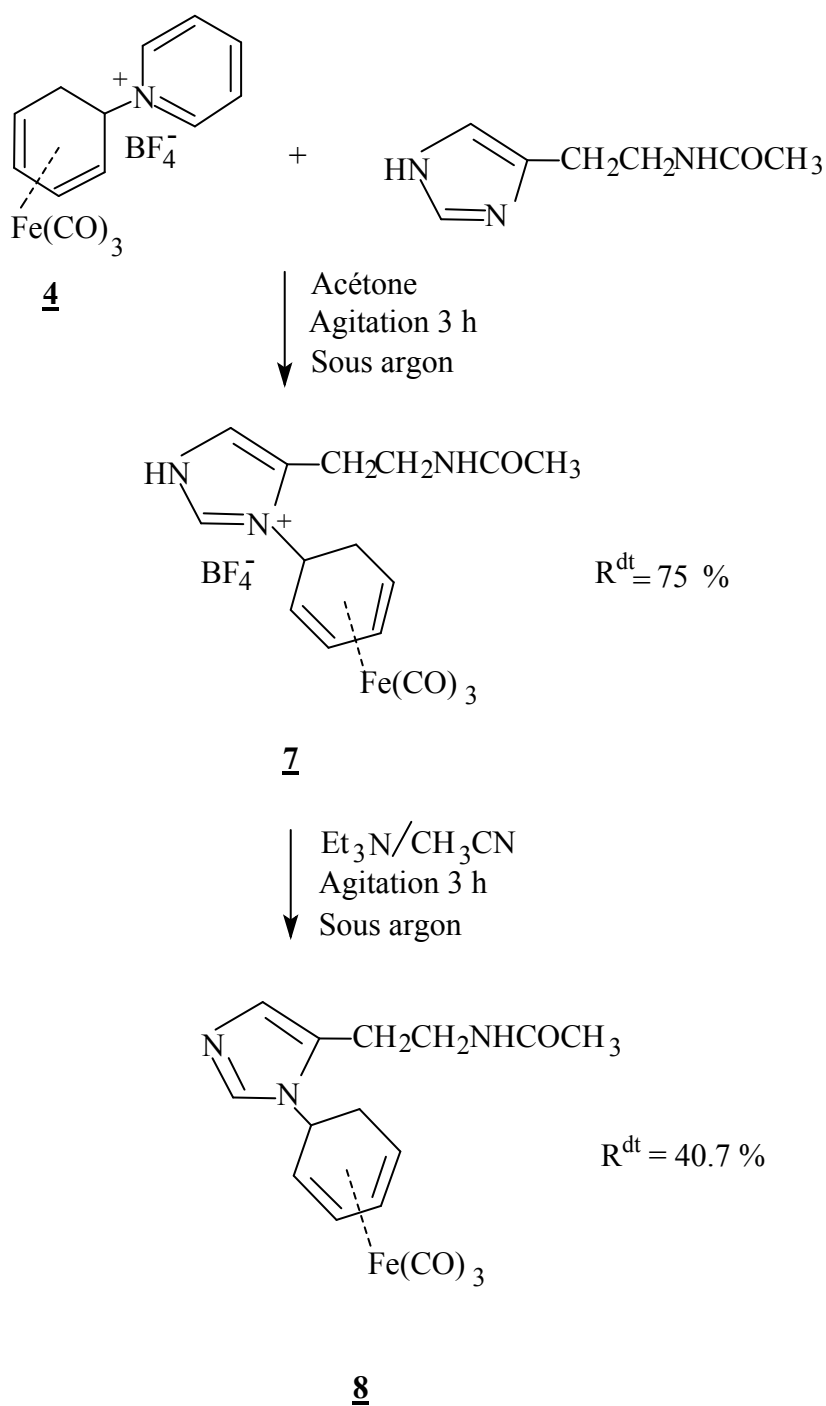
Trouvés : C (44.22%) , H (4.25%) , N (3.45%) .

En conclusion , l' acide aminé cystéine est un élément parmi les vingt acides aminés constitutifs des protéines. Le marquage de ces protéines par réaction de couplage du groupement thiol des ligands cystéine avec le complexe organo fer carbonyle **4** permet de les déceler afin de comprendre leur rôle et leur fonctionnement biologique.^{69, 70}

3- Réaction de couplage du complexe marqueur fer tricarbonyle avec la N-acétyl histamine

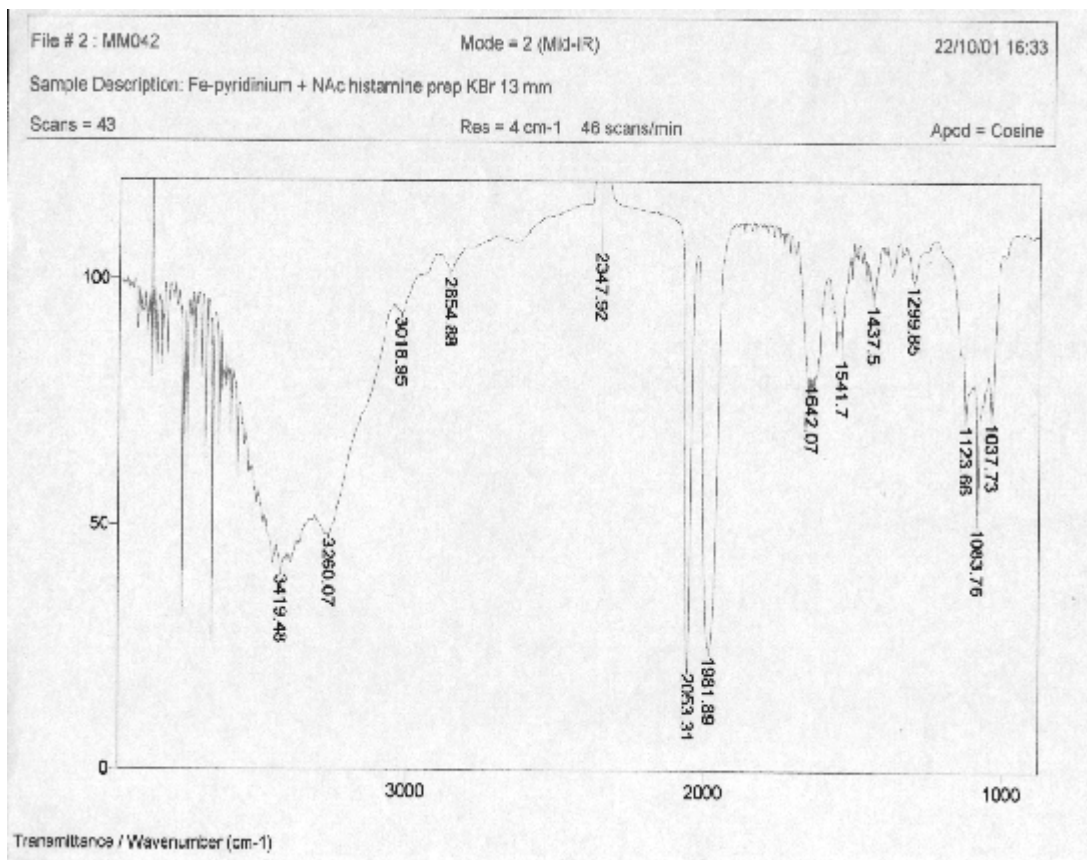
La réaction de couplage de la N-acétyl histamine avec le complexe fer carbonyle marqueur **4** donne le complexe tétrafluoro 1-4- η -5- N-acétyl histaminio cyclohexa-1,3-diène fer tricarbonyle **7** avec un rendement de 75%. Ce dernier est déprotoné à l'aide de la triéthylamine donnant le complexe neutre **8** avec un rendement de 40,7% (schéma 10).

Schéma 10



L'interprétation du spectre d'absorption IR du complexe protoné **7** donne en plus des bandes $\nu(\text{C}=\text{O})$ amide à 1541 et 1642 cm^{-1} et $\nu(\text{C}\equiv\text{O})$ carbonyles terminaux à 1982 et 2053 cm^{-1} d'autres bandes caractéristiques $\nu(\text{B}-\text{F})$ à 1038, 1084 et 1124 cm^{-1} et $\nu(\text{N}-\text{H})$ à 3260 et 3419 cm^{-1} (spectre 9).

Spectre 9



Les données de l'analyse élémentaire de ce complexe sont conformes aux valeurs calculées :

Masse moléculaire ($C_{16}H_{18}BF_4FeN_3O_4$) : 458.66

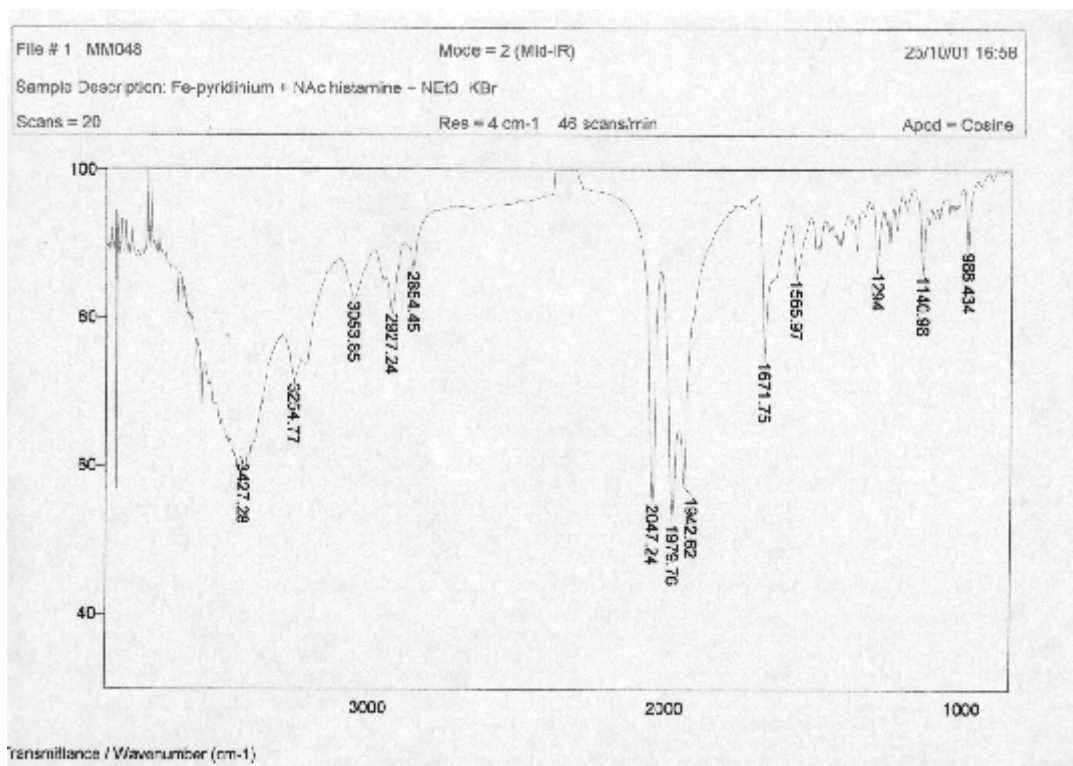
Eléments dosés :

Calculés : C (41.86%) , H (3.92%) , N (9.16%) .

Trouvés : C (40.96%) , H (4.15%) , N (8.91%) .

L'étude du spectre IR du complexe neutre **8** montre que les fréquences d'absorption varient peu par rapport à celles du complexe protoné **7**. En effet, les bandes carbonyles apparaissent pour $\nu(C=O \text{ amide})$ à 1566 et 1672 cm^{-1} et pour $\nu(C\equiv O)$ à 1943, 1980 et 2047 cm^{-1} ; les autres bandes caractéristiques $\nu(N-H)$ sortent à 3255 et 3427 cm^{-1} . L'absence des bandes $\nu(B-F)$ de l'anion BF_4^- confirme la forme neutre du complexe **8** (spectre 10).

Spectre 10



L'examen du spectre RMN ^1H du complexe protoné **7** montre que ses protons sont légèrement plus déblindés que ceux du complexe neutre **8** (tableau 5). Cela est probablement dû à l'effet électroattracteur plus important du complexe protoné par rapport à celui de la forme neutre.

Tableau 5

Données spectroscopiques RMN ^1H des complexes **7** et **8**.

RMN ^1H (CD_3COCD_3 , 250MHz) :

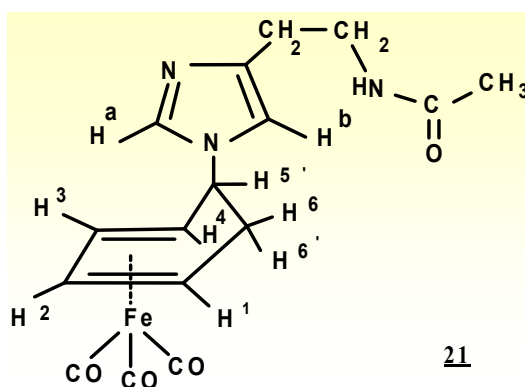
δ (ppm / TMS) : Complexe **7**

1.87(4H,m,H⁶et CH₃) , 2.73(1H,ddd 3.7 , 11.1 et 15.6 Hz, H^{6'}) ,
 3.01(2H,t 6.3Hz, βCH_2) , 3.12(1H,t 4.6Hz, H¹) , 3.22(1H,m, H⁴) ,
 3.46(2H,m, CH₂NH) ,5.19(1H,dt 11.2 et 2.9 Hz , H^{5'}) , 5.87(1H,t 5.2 Hz ,H³) ,
 5.96(1H,t 4.8Hz, H²) , 7.54(1H,s,H^b) , 8.99(1H, s, H^a).

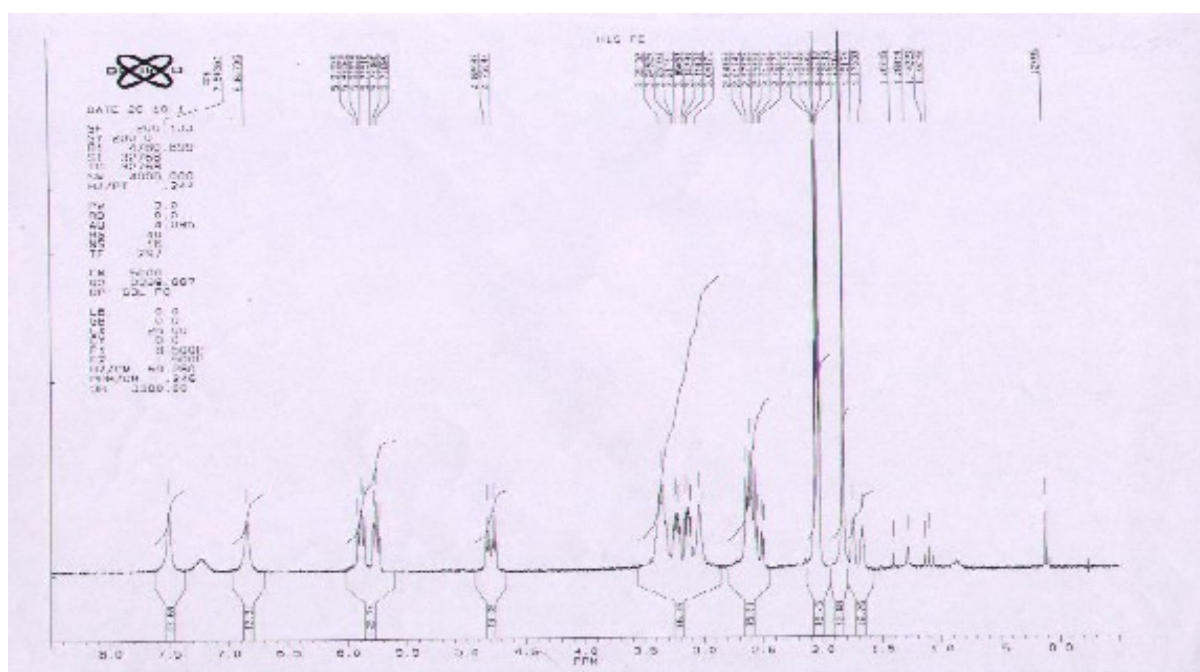
δ (ppm / TMS) : Complexe **8**

1.71(1H,dt 11 et 3Hz, H⁶) , 1.83(3H,s, CH₃ amide) ,
 2.57(3H,m, H⁶ et β CH₂) , 3.14(1H,t 4.8Hz, H¹) , 3.24(1H,t 4.8 Hz, H⁴) ,
 3.36(2H,m, CH₂NH) , 4.80(1H,dt 10.9 et 3.0 Hz , H^{5'}) , 5.76(1H,t 4.6 Hz ,H³) ,
 5.90(1H,t 4.6Hz, H²) , 6.85(1H,s,H^b) , 7.50(1H, s, H^a).

Les faibles constantes de couplage entre les protons H^{5'}_{eq} et H⁶_{ax} des complexe **7** et **8** (J= 2,9 et 3 Hz) confirment la configuration exo du ligand organique attaché au carbone 5 (spectre 11).



Spectre 11



Les protons oléfiniques du ligand cyclohexadiényle du complexe neutre qui sont homologues deux à deux (H_1, H_4 et H_2, H_3) apparaissent sous forme de quatre triplets avec des constantes de couplage respectives de 4,8 Hz et 4,6 Hz. Cela s'explique par le fait que l'addition du ligand organique n'engendre pas de perturbation électronique significative à l'entité organométallique.

Les données de l'analyse élémentaire de ce complexe sont conformes aux valeurs calculées :

Masse moléculaire ($C_{14}H_{15}FeN_3O_6S$) : 371.17

Eléments dosés :

Calculés : C (51.78%), H (4.58%), N (11.32%).

Trouvés : C (51.60%), H (4.86%), N (11.14%).

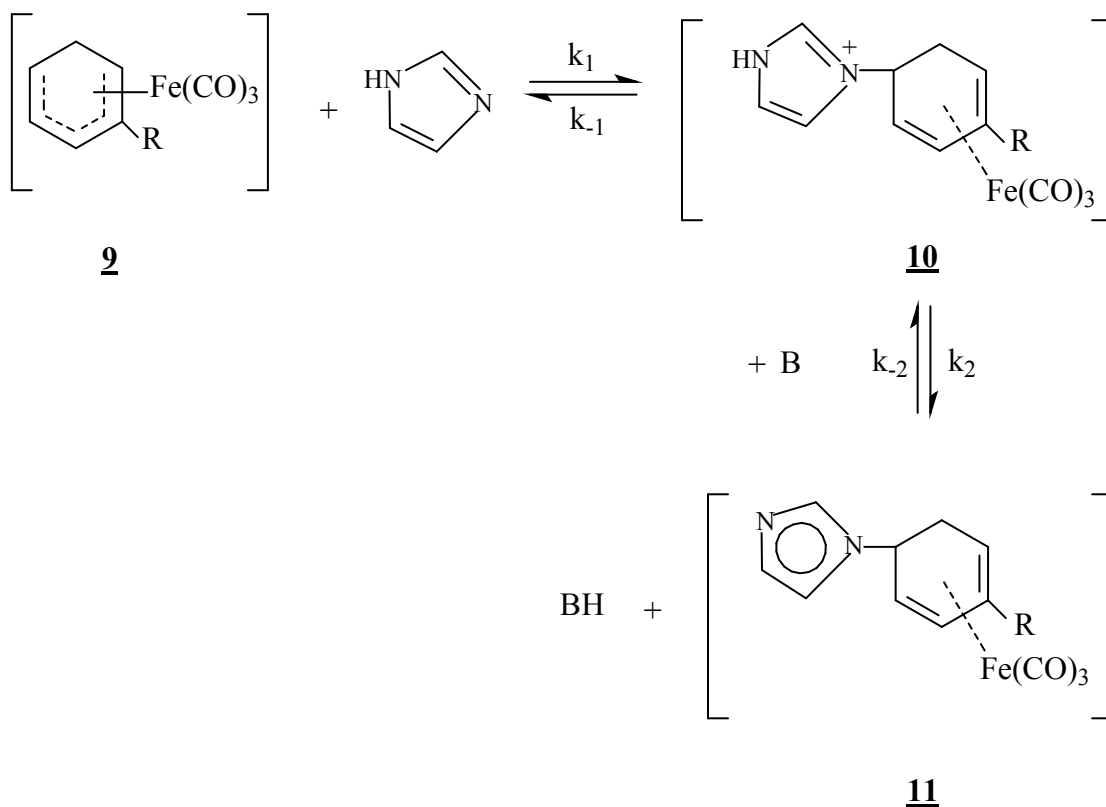
En conclusion , la réaction de couplage entre le complexe marqueur fer tricarbonyle **4** et l'imidazole de l'histamine, ligand analogue à l'acide aminé histidine qui est un élément constitutif des protéines, serait une bonne voie à entreprendre pour le marquage des protéines ⁶⁸.

CHAPITRE IV : Etude Cinétique de la réaction de couplage

Introduction

Dans la littérature, Leon A.P.Kane-Maguire et David J.Evans⁷¹ ont effectué des études cinétiques des réactions des cations fer tricarbonyles diényles $[\text{Fe}(\text{CO})_3(1-5-\eta\text{-diényl})]^+$ (diényl = C_6H_7 ou $2\text{-MeOC}_6\text{H}_6$) avec l'imidazole. En effet ce dernier réagit de manière rapide et réversible avec les cations fer tricarbonyle diényl **9a** et **9b** (a : $\text{R}=\text{H}$; b : $\text{R}=\text{OCH}_3$) et conduit respectivement d'abord aux complexes protonés **10a** et **10b** puis aux complexes neutres **11a** et **11b** (schéma 11).

Schéma 11



Ces réactions de **9a** et **9b** avec l'imidazole sont généralement étudiées dans l'acétonitrile avec un large excès de nucléophile ($[\text{Fe}(\text{CO})_3(1-5-\eta\text{-diényl})]^+ = 1,2$ à $1,5 \times 10^{-3}$ mol.l⁻¹ ; [imidazole] = $0,5$ à $0,8 \times 10^{-2}$ mol.l⁻¹) et contrôlées par un spectrophotomètre thermostaté ($\pm 0,1^\circ\text{C}$) en suivant la décroissance en absorbance à 390 nm.

L'expression de la constante de vitesse^{48,72} d'une réaction passant par la formation d'un intermédiaire cationique s'écrit sous la forme générale (1) :

$$k_{\text{obs}} = \frac{k_1 k_2 [\text{imidazole}]^2}{k_1 + k_2 [\text{imidazole}]} = k[\text{imidazole}] \quad (1)$$

Les constantes de vitesse k sont calculées à l'aide de la méthode des moindres carrés³⁷ à partir des courbes k_{obs} en fonction des différentes concentrations du substrat imidazole (tableau 6).

Tableau 6

Résultats cinétiques de l'addition de l'imidazole sur les cations $[\text{Fe}(\text{CO})_3(1\text{-}5\text{-}\eta\text{-diényl})]^+$ dans CH_3CN à 0 °C.

Cation	$10^2[\text{imidazole}] / \text{mol.l}^{-1}$	$k_{\text{obs}} / \text{s}^{-1}$	$k / \text{mol.l}^{-1} \text{s}^{-1}$
<u>9a</u>	0.5	19.3	-
-	0.6	41.4	-
-	0.9	43.1	-
-	1.0	42.2	-
-	1.1	46.7	4390(130) ^a
-	1.2	48.9	-

-	1.5	60.5	-
-	2.0	103	-
-	3.0	132	-
-	4.0	157	-
<u>9b</u>	1.0	0.37	-
-	2.0	0.90	51.4(0.5) ^a
-	4.0	2.00	-
-	8.0	3.97	-

^aValeurs entre parenthèses sont les erreurs standard estimées par la méthode des moindres carrés.

En conclusion, l'étude de ces résultats cinétiques montre que les courbes $k_{\text{obs}} = f([\text{imidazole}])$ pour les deux cations **9a** et **9b** sont linéaires ($k_{\text{obs}} = k[\text{imidazole}]$) et que l'étape de déprotonation k_2 est beaucoup plus rapide que k_{-1} ($k_{\text{obs}} = k_1[\text{imidazole}]$). Ainsi les valeurs k des constantes de vitesse dans le tableau 5 se rapportent aux valeurs k_1 ; constantes de vitesse de second ordre pour l'addition de l'imidazole sur les cations diényl **9a** et **9b**.

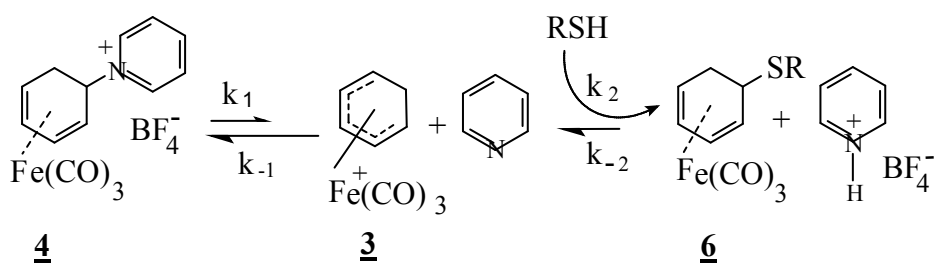
L'ordre de réactivité de ces deux cations, $k_1(\text{C}_6\text{H}_7) \gg k_1(2\text{-MeOC}_6\text{H}_6)$ dans un rapport de (85 : 1) révèle la formation d'une liaison hydrogène entre l'imidazole-NH et l'oxygène du 2-MeO; laquelle ralentit l'attaque nucléophile de l'imidazole sur le cation diényl **9b**.

L'importance des effets stériques et électroniques dans l'addition des nucléophiles sur les complexes organométalliques suscite chez nous l'intérêt d'étudier la cinétique de la réaction de couplage entre le complexe fer tricarbonyle **4** et des molécules biologiques importantes.

1- Etude cinétique de la réaction de couplage du complexe fer tricarbonyle avec la N-acétyl cystéine

L'étude cinétique et mécanistique de la réaction de couplage entre le complexe tétrafluoroborate 1-4-η-5-pyridinio cyclohexa-1,3-diène fer tricarbonyle (**4**) et la N-acétyl cystéine (R-SH) confirme le processus bimoléculaire de la vitesse (schéma 12).

Schéma 12

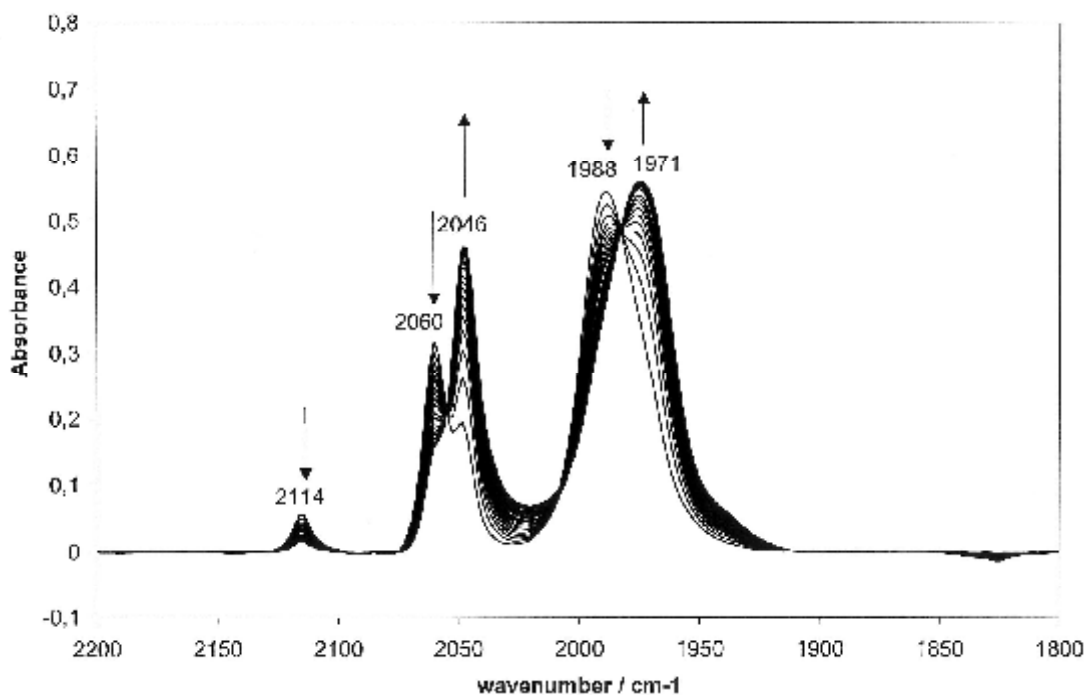


$$\text{Vitesse} = k [\text{Fe}] [\text{R-SH}]$$

Ainsi , les investigations en spectroscopie IR nous ont permis de faire des études cinétiques sur ces réactions de couplage. En effet , en l'absence de substrat nucléophile, le complexe fer tricarbonyle **4** présente deux bandes $\nu(\text{C}\equiv\text{O})$ à 2059 et 1989 cm^{-1} et une petite bande $\nu(\text{C}\equiv\text{O})$ à 2114 cm^{-1} attribuée au cation $[(\text{C}_6\text{H}_7)\text{Fe}(\text{CO})_3]^+$ **3** résultant de la dissociation partielle de la pyridine.

L'addition d'un équivalent N-acétyl cystéine sur le complexe fer tricarbonyle **4** entraîne une diminution graduelle des intensités des trois bandes précédentes et une apparition graduelle de deux autres bandes $\nu(\text{C}\equiv\text{O})$ à 2046 et 1971 cm^{-1} correspondantes à la formation du complexe **6** (spectre 12).

Spectre 12



L'analyse quantitative des données de ces courbes (schéma 12) montre que la réaction est du second ordre et sa constante de vitesse est de : $k_2 = 6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$. Ainsi, l'étape déterminante de la réaction est régie par l'addition du substrat nucléophile R-SH sur l'intermédiaire cationique **3**. Tandis que les étapes de la dissociation de la pyridine et la déprotonation sont beaucoup plus rapides ($k_2 \gg k_1$).

Cependant, les autres réactions de couplage entre le complexe fer tricarbonyle **4** et les deux substrats respectifs N-acétyl histamine et butylamine sont assez rapides et ne permettent donc pas un contrôle cinétique par spectroscopie IR.

En conclusion, nous pouvons dire que cette étude cinétique par spectroscopie IR à Transformée de Fourier (FT-IR) a révélé que les réactions de couplage du complexe fer tricarbonyle **4** avec la N-acétyl histamine et la butylamine sont beaucoup plus rapides que celle avec la N-acétyl cystéine.

2- Dosage acido-basique du complexe 1-4-η-5- N-acétyl histaminio-cyclohexa-1,3-diène fer tricarbonyle

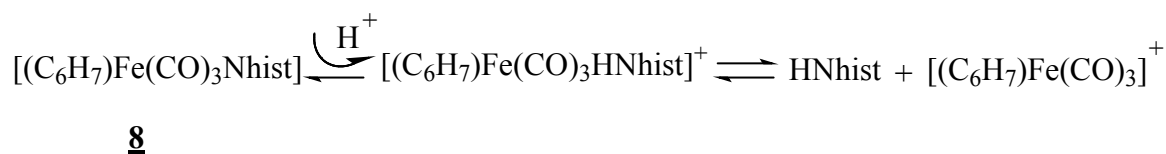
Les complexes métal carbonyle coordonnés à des ligands organiques possédant des groupements fonctionnels CO₂H , OH , SH et NH₂ constituent des molécules sonde sensibles au pH et peuvent donc être contrôlées par spectroscopie IR à Transformée de Fourier (FT-IR). Les fréquences des bandes des modes de vibration $\nu_{\text{sym}}(\text{CO})$ et $\nu_{\text{asym}}(\text{CO})$ dans la région 1800-2100 cm⁻¹ en spectroscopie IR⁷³ relatives à la protonation ou à la déprotonation des molécules sondes peuvent être corrélées avec le pH de la solution , permettant ainsi une mesure spectoscopique directe du pH avec une bonne sensibilité.⁷⁴

Ces bandes fines des modes de vibration ν (CO) permettent l'utilisation simultanée de plusieurs complexes en solution ; en effet il est montré⁷⁵ que , par un choix approprié de pH sensible au groupe fonctionnel en question , un complexe peut être sélectionné et contrôlé dans un domaine particulier de pH.

En conclusion , l'utilisation de la spectroscopie IR à Transformée de Fourier (FT-IR) pour contrôler les complexes organométalliques carbonyles en solution a conduit à des résultats satisfaisants en matière de sensibilité grâce aux progrès récents de cette technique et à ses potentialités d'analyse des systèmes multi-analytes.⁷⁶

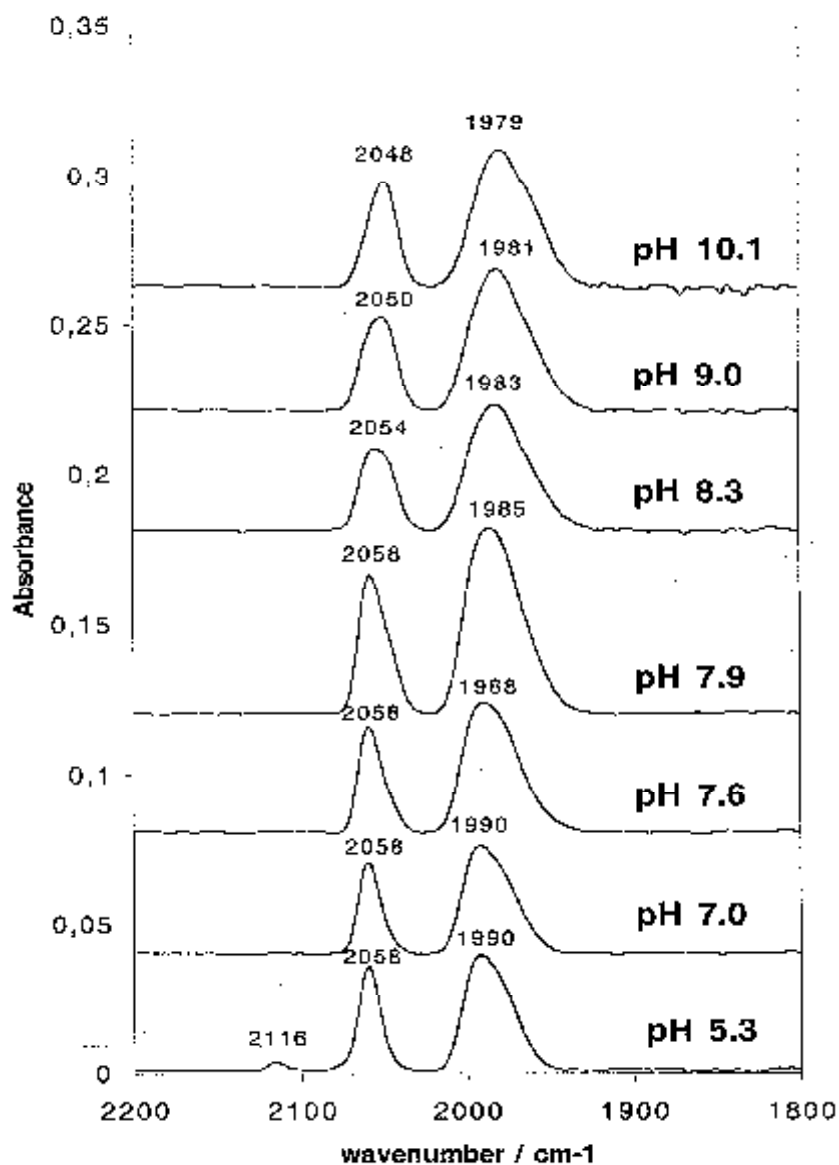
Dans ce contexte , nous nous sommes intéressés à l'étude du dosage acido-basique par spectroscopie IR du complexe 1-4-η-5- N-acétyl histaminio-cyclohexa-1,3-diène fer tricarbonyle **8** possédant un ligand organique N-acétyl histamine (HNhist) sensible au pH de la solution (schéma 13).

Schéma 13



Ainsi , la titration acido-basique du complexe **8** suivie par spectroscopie IR (spectre 13) a révélé que le ligand organique marqué par l'unité fer carbonyle est légèrement plus basique que le composé parent N-acétyl histamine.

Spectre 13



En effet à pH = 5.3 , un groupe de bandes $\nu(\text{C}\equiv\text{O})$ est observé à 2058 et 1990 cm^{-1} et attribué à la forme protonée du composé **8**. Une petite bande à 2116 cm^{-1} du cation $[(\text{C}_6\text{H}_7)\text{Fe}(\text{CO})_3]^+$ indique une dissociation partielle du ligand N-acétyl histamine de l'unité fer carbonyle. En augmentant le pH , on observe un déplacement des deux bandes $\nu(\text{C}\equiv\text{O})$ vers les faibles nombres d'ondes attribué à la déprotonation du composé (2048 et 1979 cm^{-1}) avec la disparition complète de la petite bande à 2116 cm^{-1} du cation $[(\text{C}_6\text{H}_7)\text{Fe}(\text{CO})_3]^+$.

Le pK_a de cet équilibre acido-basique estimé approximativement à 8.2 à partir des bandes du spectre IR est supérieur au pK_a du composé parent N-acétyl histamine ($pK_a= 6.9$).

En conclusion , cette étude a montré que le complexe **8** est stable en milieu aqueux à $pH > 5$ et commence à se déprotonner au dessus de $pH = 8$ et qu'il est légèrement plus basique que le composé parent N-acétyl histamine.

Partie expérimentale

I - Matériels et méthodes

Toutes les manipulations ont été effectuées sous atmosphère de gaz inerte (argon) et suivies par chromatographie couche mince (CCM) et par spectroscopie IR.

Les solvants sont desséchés puis distillés sous atmosphère d'argon suivant les méthodes classiques citées dans la littérature.

La séparation et la purification des produits sont réalisées par flash chromatographie sur colonne et par recristallisation.

Les spectres IR ont été enregistrés sur un spectromètre à Transformée de Fourier : Bomem MB 100.

Les spectres RMN ^1H ont été obtenus sur un spectromètre Brücker AM 250 à 250 Mz.

L'analyse élémentaire a été effectuée au Centre Régional de Microanalyses de l'Université Pierre et Marie Curie de Paris VI.

Montage

Nous avons utilisé le montage indiqué à la figure 2 et conçu par la société Bomen pour l'analyse d'échantillons de taille standard ou des micro-échantillons.

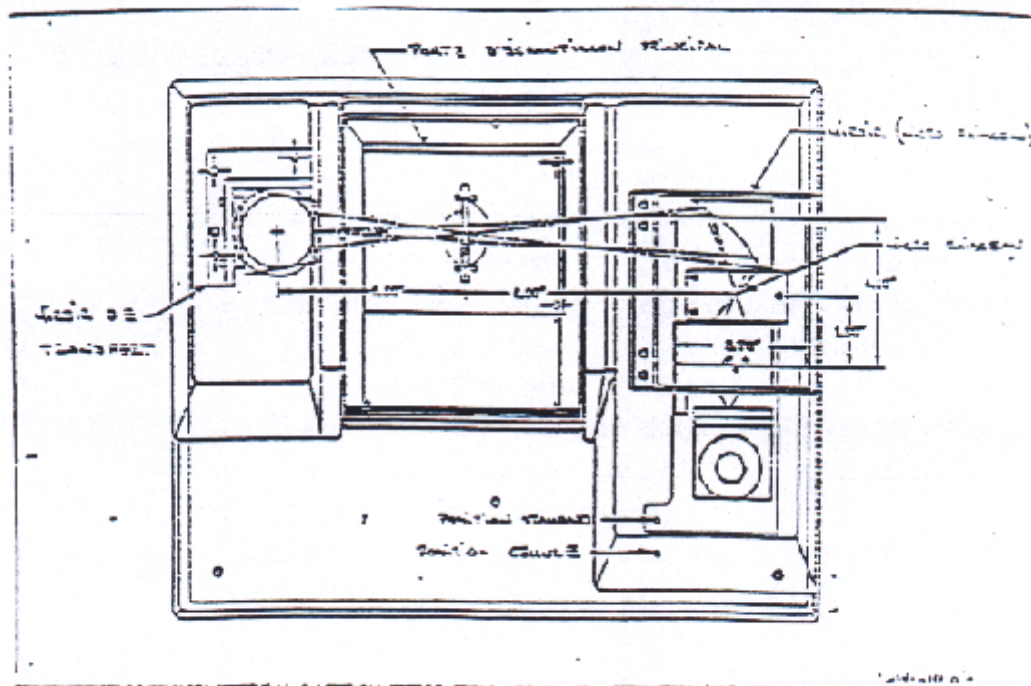
Partie échantillonnage standard :

Le faisceau IR provenant de la source est focalisé une première fois dans le compartiment échantillonnage standard équipé d'un portoir cinématique par un miroir "off-axis" $f/4$ recouvert d'or (diamètre du faisceau à son point focal 6 mm).

Un deuxième miroir "off-axis" refocalise le faisceau à angle droit (diamètre 1 mm) dans le compartiment micro-échantillon. Il fait office de condensateur de faisceau. Le faisceau est focalisé une troisième fois dans le compartiment détecteur par une série de deux miroirs placés à angle droit.

Le détecteur InSb, son dewar et la carte électronique de préamplification sont contenus dans un boîtier amovible. Celui-ci peut occuper deux positions suivant le trajet optique de la cellule placée entre les deux miroirs du microfaisceau.

Figure 2



Pour ce montage⁸⁹, le rapport signal/bruit est de 2000/1 pic à pic à 2000 cm^{-1} (NS=1).

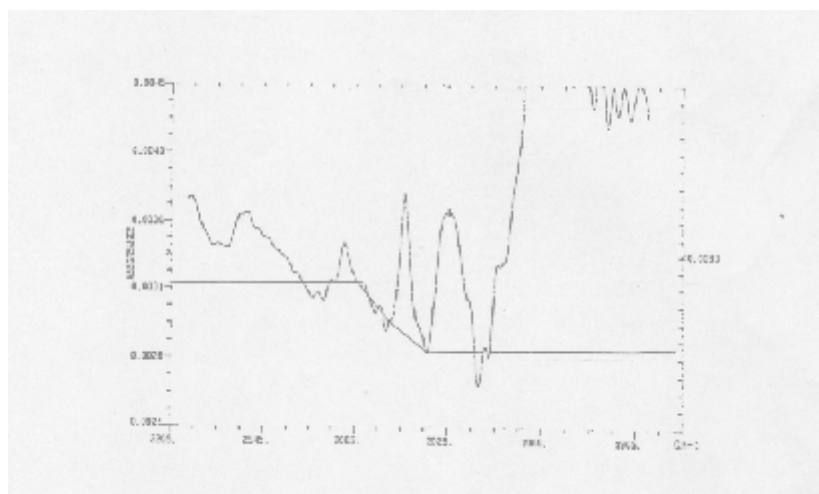
Mesure d'un échantillon

Dans tous les cas, l'acquisition et le traitement des données sont effectuées par un ordinateur PC-AT (NEC PowerMate 1).

Le programme permet entre autre de suivre l'évolution de l'énergie et permet ainsi une optimisation en temps réel de la position des échantillons. Le temps d'acquisition (NS) est ensuite fixé.

Pour une série homogène d'échantillons, une correction systématique de la ligne de base est effectuée suivant la technique sur la figure 3 avec le programme "Trend Line Analysis" qui fournit ensuite automatiquement pour une série de spectres, la mesure de l'intensité aux fréquences préalablement choisies sur un spectre témoin.

Figure 3



Méthodes d'échantillonnage par FT-IR

Deux méthodes d'échantillonnage des complexes métal-carbonyles en phase solide sont utilisés. La première est dispersive et emploie des micro-pastilles de KBr de 3 mm. La deuxième emploie comme support des membranes de nitrocellulose.

Le grand avantage de ces méthodes en phase solide par rapport à celles en phase liquide est la possibilité d'un dosage proprement dit du conjugué aussi bien en milieu organique qu'aqueux (milieu physiologique des protéines) sans l'obligation d'extraire la biomolécule marquée et ensuite faire un dosage en milieu organique (dosage en phase liquide).

Micropastilles de KBr

Cette technique a été développée avec un protocole suffisamment reproductible pour être quantitatif^{89,90}.

La quantité minimale détectée est 80 pmol pour un complexe de dicobalt hexacarbonyle⁹⁰ en utilisant un détecteur InSb avec un nombre de scans égal à 64.

Comme c'est dit auparavant, cette méthode a l'avantage d'établir un dosage direct des solutions aqueuses des conjugués mais les difficultés se trouvent dans le broyage manuel des échantillons, lequel risque d'être non homogène d'où un problème de reproductibilité un grand risque d'erreur.

Pour toutes ces raisons, une autre méthode de dosage a été développée par l'équipe du Professeur G. Jaouen. Celle-ci est plus rapide et reproductible basée sur l'utilisation d'un nouveau support solide constitué par des membranes en nitrocellulose.

Membranes de nitrocellulose

Cette méthode de détection de complexes métal-carbonyles par FT-IR à l'aide des membranes de nitrocellulose est qualitative et quantitative. Le support solide a les avantages suivants :

- il est capable d'adsorber toutes les protéines
- il est transparent dans la région $1800-2200\text{ cm}^{-1}$ où le complexe métal-carbonyle absorbe
- le dépôt de la solution à doser sur la surface est homogène (assurant la reproductibilité)
- et enfin, il permet des dosages rapides à l'opposé des pastilles de KBr.

II- Préparation des complexes fer tricarbonyles

1- Préparation du complexe cyclohexa-1,3- diène fer tricarbonyle

A une solution de cyclohexa-1,3- diène (1,6g ; 1,9 ml ; 0,02 mol) dans le di-n-butyléther (50ml) fraîchement distillé sur CaH_2 est ajouté, sous argon, 2,89 ml (4,30g ; 0,022 mol) de $\text{Fe}(\text{CO})_5$ à l'aide d'une seringue. Après reflux de 20 h., le mélange est filtré et le solvant est éliminé avec un rotavap sous vide. On obtient une huile jaune brune qui est purifiée par distillation sous vide poussé. Le rendement de la réaction est de 65 % (2,86g).

IR (CH_3CN) :

$$\nu(\text{C}\equiv\text{O}) = 1974 \text{ et } 2046\text{ cm}^{-1}$$

2-Préparation du sel tétrafluoroborate (1-5- η -cyclohexadiényl) fer tricarbonyle

A une solution de cyclohexa-1,3- diène fer tricarbonyle (3,08g ; 0,014 mol.) dans CH_2Cl_2 (50 ml) est ajouté le tétrafluoroborate triphényl carbénium (4,62g ; 0,014 mol.) sous forte agitation. La réaction conduit rapidement à un précipité jaune clair.

Ce dernier est filtré, trituré et lavé 2 fois avec 5ml de CH_2Cl_2 puis séché sous vide. Le rendement de la réaction est de 70% (3g).

IR (CH₃CN) :

$$\nu (\text{C} \equiv \text{O}) = 2032 , 2071 \text{ et } 2129 \text{ cm}^{-1}$$

$$\nu (\text{B} - \text{F}) = 1110 , 1074 , 1018 \text{ cm}^{-1}$$

3-Préparation du complexe tétrafluoroborate 1-4-η-5-pyridinio cyclohexa-1,3-diène fer tricarbonyle

Des solutions du sel tétrafluoroborate (1-5-η-cyclohexadiényl) fer tricarbonyle (3g ; 0,01 mol.) dans CH₃CN (50 ml) et de la pyridine fraîchement distillée (7,9g ; 0,1mol.) dans CH₃CN (10 ml) sont agitées sous argon pendant 30mn. Le mélange est concentré au rotavap donnant une pâte huileuse. L'addition de 20 ml d'éther de pétrole conduit à un solide jaune qui est collecté sur verre fritté , trituré et lavé 2 fois avec 5ml d'éther de pétrole. Le rendement de la réaction est de 86% (3,31g).

IR(CH₃CN) :

$$\nu (\text{C} \equiv \text{O}) = 1979 , 2056 \text{ cm}^{-1}$$

$$\nu (\text{B} - \text{F}) = 1118 , 1084 , 1030 \text{ cm}^{-1}$$

RMN ¹H (CD₃COCD₃ , 250MHz) :

δ (ppm / TMS) :

2.00 (m, 1H, H⁶), 2.90 (m, 1H, H^{6'}),

3.35 (chevauchement de multiplets, 2H, H¹ et H⁴),

5.55 (m, 1H, H^{5'}), 6.00 (chevauchement de multiplets, H² et H³)

8.18 (t, 2H arom.), 8.62 (t, 1H arom.), 9.10 (d, 2H arom.)

III- Réactions de couplage du complexe marqueur fer tricarbonyle avec différents groupements nucléophiles

1- Réaction de couplage du complexe marqueur fer tricarbonyle avec la n-butylamine

Une solution de $[\text{Fe}(1\text{-}4\eta\text{-}5\text{-C}_6\text{H}_7\text{Pyr.})(\text{CO})_3](\text{BF}_4)$ (0,77g, 2mmol) et de la butylamine (0,197ml, 2mmol) dans CH_3COCH_3 (20ml) est agitée sous atmosphère inerte (argon) à température ambiante pendant 3h. Cette dernière est filtrée puis évaporée sous vide. Le produit solide obtenu est trituré et lavé avec du toluène afin d'éliminer la pyridine formée puis évaporé sous vide. La recristallisation dans un mélange acétone-pentane conduit à une poudre jaune avec un rendement de 85% (0,646g). Le point de fusion est 141-142°C.

IR (CH_3CN) :

$$\nu(\text{N-H}) = 3432 \text{ cm}^{-1}$$

$$\nu(\text{C}\equiv\text{O}) = 2057, 1986, 1972 \text{ cm}^{-1}$$

$$\nu(\text{B-F}) = 1123, 1084, 1037 \text{ cm}^{-1}$$

RMN ^1H (CD_3COCD_3 , 250MHz) :

δ (ppm / TMS) :

0.91 (3H, t 7.2 Hz, CH_3), 1.40 (2H, sextuplet 7.6 Hz, γCH_2),

1.72 (2H, quintuplet 7.6 Hz, βCH_2), 1.90 (1H, dt 16.5 et 3.6 Hz, H^6),

2.49 (1H, ddd 4, 10.7 et 15.8 Hz, $\text{H}^{6'}$), 3.15-3.26 (4H, m, H^1 , H^4 et αCH_2),

4.01 (1H, dt 10.5 et 3.6 Hz, $\text{H}^{5'}$), 5.78 (1H, t 4.8 Hz, H^3),

5.84 (1H, t 5.9 Hz, H^2).

Microanalyse ($\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{BF}_4\text{FeNO}_3$) :

Masse moléculaire : 378.66

Eléments dosés :

Calculés : C (41.23%) , H (4.75%) , N (3.70%) .

Trouvés : C (41.08%) , H (4.92%) , N (3.65%) .

2- Réaction de couplage du complexe marqueur fer tricarbonyle avec la N- acétyl cystéine

Des solutions de $[\text{Fe}(1\text{-}4\eta\text{-}5\text{-}\text{C}_6\text{H}_7\text{Pyr.})(\text{CO})_3](\text{BF}_4)$ (0,77g ; 2mmol) dans CH_3COCH_3 (10ml) et du N-acétyl cystéine (0,326g ; 2mmol) dans CH_3COCH_3 (10ml) sont mélangées sous atmosphère inerte (argon) à température ambiante. Après 3 h d'agitation le mélange réactionnel est filtré puis évaporé sous vide. Le produit solide brut est dissout dans CH_2CL_2 (20ml) et lavé plusieurs fois avec 2 ml d'eau puis séché sur MgSO_4 . L'évaporation du solvant conduit à une poudre jaune pâle qui est purifiée par flash chromatographie sur colonne de gel de silice 60 (éluant : éther diéthylique / éther de pétrole dans un rapport de 15 : 85). Le rendement est de 62% (0,476g) et le point de fusion est 120-121°C.

IR (CH_3CN) :

$$\nu(\text{N-H}) = 3340 \text{ cm}^{-1}$$

$$\nu(\text{C}\equiv\text{O}) = 2043 , 1974 \text{ cm}^{-1}$$

$$\nu(\text{C=O}) \text{ acide} = 1719 \text{ cm}^{-1}$$

$$\nu(\text{amide I}) = 1599 \text{ cm}^{-1}$$

$$\nu(\text{amide II}) = 1541 \text{ cm}^{-1}$$

RMN ^1H (CD_3COCD_3 , 250MHz) :

δ (ppm / TMS) :

7.34 (1H,br s ,NH) , 5.63(1H,t 4.8 Hz , H^2) , 5.54(1H,t 5.7 Hz, H^3) ,

4.63(1H,m, H^a) , 3.40(2H,m , $\text{H}^{5'}$ et H^1) , 3.21(1H, m , H^4) ,

3.09(1H,dd 4.8 et 13.8 Hz, H^b) , 2.85(1H,dd 7.2 et 13.8 Hz , H^b)

2.29(1H,ddd 3.6 , 10.5 et 15 Hz, H^6) , 1.93(3H,s, CH_3) , 1.56(1H ,dt 15.6 et 3,4 Hz, H^6)

Microanalyse (C₁₄H₁₅O₆NSFe) :

Masse moléculaire : 381.19

Eléments dosés :

Calculés : C (44.07%) , H (3.93%) , N (3.67%) .

Trouvés : C (44.22 %) , H (4.25 %) , N (3.45%).

3- Réaction de couplage du complexe marqueur fer tricarbonyle avec la N-acétyl histamine

Le complexe [Fe(1-4η-5-C₆H₇ Pyr.)(CO)₃](BF₄) (0,77g, 2mmol) et le substrat N-acétyl histamine (0,306g, 2mmol) sont mélangés dans CH₃COCH₃ (20ml). La réaction est poursuivie de la même manière que celle décrite en 2). Rendement 75% (0,688g). Point de fusion 127-128°.

IR (CH₃CN) :

$$\nu(\text{N-H}) = 3419, 3260 \text{ cm}^{-1}$$

$$\nu(\text{C-H}) = 3019, 2855 \text{ cm}^{-1}$$

$$\nu(\text{C}\equiv\text{O}) = 2053, 1982 \text{ cm}^{-1}$$

$$\nu(\text{amide I}) = 1647 \text{ cm}^{-1}$$

$$\nu(\text{amide II}) = 1541 \text{ cm}^{-1}$$

$$\nu(\text{B-F}) = 1124, 1084, 1038 \text{ cm}^{-1}$$

RMN ¹H (CD₃COCD₃, 250MHz) :

δ(ppm / TMS) :

1.87(4H,m,H⁶et CH₃) , 2.73(1H,ddd 3.7 , 11.1 et 15.6 Hz, H^{6'}) ,

3.01(2H,t 6.3Hz, βCH₂) , 3.12(1H,t 4.6Hz, H¹) , 3.22(1H,m, H⁴) ,

3.46(2H,m, CH₂NH) , 5.19(1H,dt 11.2 et 2.9 Hz , H⁵) , 5.87(1H,t 5.2 Hz ,H³) ,

5.96(1H,t 4.8Hz, H²) , 7.54(1H,s,H^b) , 8.99(1H, s, H^a)

Microanalyse ($C_{16}H_{18}O_4N_3F_4BFe$) :

Masse moléculaire : 458,66

Eléments dosés :

Calculés : C (41.86%), H (3.92%), N (9.16%).

Trouvés : C (40.96%), H (4.15%), N (8.91%).

4 - Préparation du complexe 1-4 η -5-N-acétyl histamino cyclohexa-1,3-diène) fer tricarbonyle

A une solution du complexe tétrafluoroborate 1-4 η -5- N-acétyl histamino cyclohexa-1,3-diène fer tricarbonyle (0,918g, 2mmol) dans CH_3CN (20ml) est additionnée $(C_2H_5)_3 N$ (0,278 ml, 2mmol). Après 30 mn, la solution est filtrée puis évaporée sous vide. Un traitement similaire du produit brut que celui décrit en 1) donne une poudre jaune pâle qui est recristallisée dans un mélange acétone-pentane. Rendement 40,7% (0,302g).

IR(CH_3CN) :

$$v(N-H) = 3427, 3255 \text{ cm}^{-1}$$

$$v(C-H) = 3054, 3024, 2854 \text{ cm}^{-1}$$

$$v(C\equiv O) = 2047, 1980, 1943 \text{ cm}^{-1}$$

$$v(\text{amide I}) = 1672 \text{ cm}^{-1}$$

$$v(\text{amide II}) = 1566 \text{ cm}^{-1}$$

RMN 1H (CD_3COCD_3 , 250MHz) :

δ (ppm / TMS) :

1.71(1H,dt 11 et 3Hz, H^6), 1.83(3H,s, CH_3 amide),

2.57(3H,m, H^6 et βCH_2), 3.14(1H,t 4.8Hz, H^1), 3.24(1H,t 4.8 Hz, H^4),

3.36(2H,m, CH_2NH), 4.80(1H,dt 10.9 et 3.0 Hz, H^5), 5.76(1H,t 4.6 Hz, H^3),

5.90(1H,t 4.6Hz, H^2), 6.85(1H,s, H^b), 7.50(1H, s, H^a).

Microanalyse ($C_{16}H_{17}O_4N_3Fe$) :

Masse moléculaire : 371.17

Eléments dosés :

Calculés : C (51.78%), H (4.58%), N (11.32%).

Trouvés : C (51.60%), H (4.86%), N (11.14%).

CONCLUSION GENERALE

Le travail présenté dans ce mémoire est consacré à la préparation, à la réactivité et à la caractérisation des complexes fer tricarbonyles obtenus par couplage covalent entre le cation tétrafluoroborate (1-5- η -cyclohexadiényl) fer tricarbonyle et une amine aliphatique primaire, la n-butylamine et les deux molécules biologiquement actives : la N-acétyl cystéine et la N-acétyl histamine.

Les principaux résultats obtenus au cours de ce travail sont les suivants :

La spectroscopie IR des complexes Fe-cyst, Fe⁺but et Fe⁺hist dans KBr montre la présence de deux ou trois bandes carbonyles intenses dans la région 1900-2100 cm⁻¹, conformément au mode de vibration respectif e ou a₁. Celles-ci sont facilement attribuées aux ligands carbonyles coordonnés au fer. Comparées aux bandes $\nu_{C\equiv O}$ du complexe Fe⁺pyr de départ, un déplacement de 3 et 9 cm⁻¹ vers les faibles nombres d'ondes est observé pour les bandes des complexes Fe⁺hist et Fe-cyst, respectivement. Cependant, aucun déplacement n'est signalé pour les bandes du complexe Fe⁺but. Cela est vraisemblablement dû à la non équivalence du transfert de charges, lequel dépend de la force nucléophile (pouvoir électrodonneur) des différents ligands organiques (=N- > -SH > -NH₂ > Pyridine). Ce transfert de charges renforce la liaison métal→ C≡O (transfert en retour métal← C≡O faible) et provoque une diminution des nombres d'ondes.

La présence de plusieurs bandes autour de 1100 cm⁻¹ pour les complexes Fe⁺hist et Fe⁺but indiquent qu'ils sont sous forme de sels BF₄⁻ contrairement au complexe Fe-cyst qui est neutre.

La réaction du complexe Fe⁺hist avec la triéthylamine conduit à un nouveau complexe neutre Fe-hist. Son spectre IR montre plusieurs bandes $\nu_{C\equiv O}$ associées au mode de vibration a₁. Un déplacement de 6 cm⁻¹ vers les faibles nombres d'ondes est signalé pour le complexe neutre Fe-hist par rapport au complexe protoné Fe⁺hist. En outre, il n'y a pas de bandes dans la région 1100 cm⁻¹, indiquant l'absence de l'anion BF₄⁻.

L'addition des différents ligands organiques N- et S-nucléophiles sur le cation (1-5- η -cyclohexadiényl) fer tricarbonyle n'affecte que très peu l'environnement électronique de ce dernier. En effet, en spectroscopie RMN ¹H, les déplacements chimiques des protons, dans le fragment cyclohexa-1,3-diène fer tricarbonyle sont comparables pour les quatre complexes Fe-cyst, Fe⁺but, Fe⁺hist et Fe-hist, particulièrement pour les protons H⁶ et H^{6'} lesquels sont diastéréotopiques.

Les protons des ligands organiques coordonnés à l'unité fer tricarbonyle résonnent à des champs plus faibles que ceux des composés parents libres ; compte tenu des effets électroattracteurs des fer carbonyles.

La formation d'un seul stéréoisomère obtenu par réaction de couplage entre le complexe marqueur Fe^+pyr et les ligands organiques N- et S-nucléophiles est expliquée par la petite constante de couplage (3 Hz) entre H^5 et H^6 . La configuration exo est ainsi assignée au ligand organique en α du carbone oléfinique.

Les études cinétiques montrent que les réactions de couplage du complexe marqueur Fe^+pyr avec la N-acétyl histamine et n-butylamine sont beaucoup plus rapides qu'avec la N-acétyl cystéine. L'addition nucléophile sur le cation intermédiaire (1-5- η -cyclohexadiényle) fer tricarbonyle est plus rapide que la substitution nucléophile et son couplage est stéréo et régiosélectif.

Le titrage acido-basique du complexe la N-acétyl histamine - fer tricarbonyle, contrôlé par spectroscopie IR, montre qu'il est stable à pH compris entre 5 et 8 et que sa forme déprotonnée est obtenue à partir de pH = 8.

Enfin, nous avons montré que le couplage covalent de ligands organiques avec les métaux carbonyles, basé sur la réactivité des fonctions nucléophiles de la plupart des protéines, en l'occurrence la fonction thiol de la cystéine, permet le marquage des peptides et des protéines. Les molécules ainsi marquées deviennent absorbantes dans la région 1800-2100 cm^{-1} de l'infrarouge et une simple mesure spectroscopique permet de les repérer et de les quantifier.

Les propriétés spectroscopiques des métaux de transition et de leurs organo-complexes peuvent être exploitées dans des domaines variés de la médecine et de l'environnement et ce en particulier dans la biochimie analytique, l'analyse tridimensionnelle des protéines, le développement des radiopharmaceutiques ainsi que la recherche de pesticides.

BIBLIOGRAPHIE

- 1- H.W. Quinn et J.H. Tsai, *Adv.Inorg.Chem.Radiochem.*, 1969, 12, 217.
- 2- A.J. Birch et H. Fitton, *Austral.J.Chem.*, 1969, 22, 971.
- 3- E.W. Abel et S.P.Tyfield, *Adv.Organometallic Chem.*, 1970, 8, 117
- 4- R.B. King, T.A. Manuel et F.G.A. Stone, *J.Inorg.Nucl.Chem.*, 16 (1961) 233.
- 5- Michael Cais et N.Maoz, *J.Organométal.Chem.*, 5 (1966) 370-383.
- 6- M. Cais et M. Feldkimmel, *Tetrahedron Letters* ,13 (1961) 444.
- 7- R. Burton, L. Pratt et G. Wilkinson, *J.Chem.Soc.*, (1961) 594.
- 8- R.T. Lundquist et M. Cais, *J.Org.Chem.*, 27 (1962) 1167
- 9- H.B. Gray et N.A. Beach, *J.Am.Chem.Soc.*, 85 (1963) 2922.
- 10- M. Cais, in S. Patai. *The Chemistry of Alkenes*, Wiley, New York, 1964, chapter 6.
- 11- N.S. Nametkine, A.I. Nekhaev, V.D. Tyurine et V.N. Dontsova, *Izv. Akad, Nauk SSSR, Ser, Khim.*, (1973) 959.
- 12- N.S Nametkine, A.I. Nekhaev, V.D. Tyurine, *Izv. Akad. Nauk, SSSR, Ser, Khim*, (1974) 890.
- 13- R.W. Novak, T.E. Stevens et M. Howard, *J.Org.Chem.*, 36 (1971) 1699.
- 14- N.S Nametkine, V.D. Tyurine, M.N. Al-Laddaoui et N.A.Gromacheva, *Izv.Akad Nauk SSSR, Ser, Khim.*, (1973) 2170.
- 15- N.S. Nametkine, V.D.Tyurine, A.I. Nekhaev, V.I. Ivanov et F.S. Bayaouova, *Izv.Akad Nauk SSSR, Ser, Khim.*, (1975) 110.
- 16- F.G. Cowherd et J.L.Rosenberg, *J.Amer.Chem.Soc.*, 91 (1969) 2157.
- 17- C.P. Casy et C.R. Cyr, *J.Amer.Chem.Soc.*, 95 (1973) 2248.
- 18- M.L.H Green, *Organometallic compounds.Vol.2. The Transition Elements*. Methuen and Co. Ltd, London, 1968, p.318.
- 19- A.J. Birch et M.A. Haas. *J.Chem.Soc C*, (1971), 2465.
- 20- C.A. Buehler et D.E. Pearson. *Survey of Organic Synthesis*. Wiley- Interscience, New- York / London / Sydney / Toronto, 1970.
- 21- G. Buchi et N.C. Yang , *J.Am.Chem.Soc.*, 79 (1957) 2318.
- 22- P. DeMayo , J.B. Stothers et R.W. Yip, *Can.J.Chem.*, 39 (1961) 2135.

- 23- M. Mousseron-Canet , P. Legendre et J. Wylde, Bull.Soc.Chim.France, (1963) 379.
- 24- M. Mousseron-Canet et P. Legendre, Bull.Soc.Chim.France, (1964) 50.
- 25- R. Pettit, G. Emerson et J. Mahler, J.Chem.Euc., 40 (1963) 175.
- 26- E.N. Frankel, E.A. Emken, H.M. Peters, V.L. Davidson et R.O. Butterfield, J.Org.Chem., (1964) 3292.
- 27- O.S. Mills et G. Robinson, Acta Cryst., 16 (1963) 758.
- 28- G.N. Schrauzer et G. Kratel, J.Organometal.Chem., 2 (1964) 336.
- 29- D.M. Brouwer, E.L. Mackor, et C. Maclean, Rec.Trav.Chim., 1966, 85, 109.
- 30- O.S Mills et J. Nice, unpublished work.
- 31- M.A. Hashmi, P.L. Pauson, et J.M. Williamson, J.Chem.Soc.(A), 1967, 240.
- 32- (a)- Leon A.P., Kane-Maguire, E.D. Honig et D.A. Sweigart, Chem.Reviews, 1984, Vol.84, N°6.
- (b)- D. Jones, L. Pratt, et G. Willkinson, J.Chem.Soc., 1962, 4458.
- 33- A.J. Birch, P.E. Cross, J.Lewis, D.A. White et S.B. Wild, J.Chem.Soc., 1968, 332.
- 34- E.O. Fischer et R.D. Fischer, Angew.Chem., 1960, 78, 919.
- 35- H.J. Dauben et D.J. Bertelli, J.Amer.Chem.Soc. 1960, 83, 498.
- 36- White, D.A.Organomet.Chem.Rev., Sect.A 1968, 3, 497.
- 37- Birch, A.J., Jenkins, I.D.“Transition Metal Organometallics in Organic Synthesis”; Alper, H.Ed.; Academic Press:New York, 1976; Vol.I, p1.
- 38- Davies, S.G. Green, M.L.H. Mingos, D.M.P.Tetrahedron, 1978, 34, 3047.
- 39- Birch, J. Ann.N.Y.Acad.Sci.1980, 333, 107.
- 40- Birch, A.J. Kelly, L.F. Narula, A.S.Tetrahedron 1982, 38, 1813.
- 41- Pearson, A.J.Acc.Chem.Res. 1980, 13, 463.
- 42- Pearson, A.J.“Comprehensive Organometallic Chemistry ”Wilkinson, G.; Stone, F.G.A.; Abel, E.W.; EDS.; Pergamon Press: New York, 1982, Vol.8, Chapitre 58.
- 43- Kane-Maguire, L.A.P., J.Chem.Soc.A 1971,1602.
- 44- Birch, A.J.; Bogsanyi D.; Kelly,L.F., J.Orgaomet.Chem.1981, 214, C39.
- 45- Chung,Y.K.; Sweigart, D.A., unpublished results.
- 46- Atton, J.G.; Kane-Maguire, l.a.p.,unpublished results.
- 47- Kane-Maguire, L.A.P. ; Odiaka,T.L.; Turgoose,S.;Williams,P.A J.Organomet.Chem. 1980, 188, C5.

- 48- Odiaka, T.I.; Kane-Maguire, L.A.P. *J.Chem.Soc., Dalton trans.* 1981, 1162.
- 49- Camaioni, C.A.; Sweigart, D.A. *J.Organomet.Chem.*, in press.
- 50- Evans, D.J.; Kane-Maguire, L.A.P. *Inorg.Chim.Acta* 1982, 62, 109.
- 51-(a) Kane-Maguire, L.A.P.; Odiaka, T.I.; Williams, P.A. *J.Chem.Soc., Dalton Trans.* 1981, 200.
- (b) Kane-Maguire, L.A.P.; Odiaka, T.I.; Turgoose, S.; Williams, P.A. *J. Chem.Soc., Dalton Trans.* 1981, 2489.
- 52- Jones, P.; Kane-Maguire, L.A.P.; Williams, P.A., unpublished results.
- 53- Smith, I.; Kane-Maguire, L.A.P., unpublished results.
- 54- Alavosus, T.; Sweigart, D.A. *J.Am.Chem.Soc.*, in press.
- 55- Rutchie, C.D. *J.Am.Chem.Soc.* 1977, 99, 5729 .
- 56- John, G.R.; Kane-Maguire, L.A.P. *J.Chem.Soc., Dalton Trans.* 1979, 873.
- 57- Atton, J.G.; Kane-Maguire, L.A.P. *J.Chem.Soc., Dalton Trans.* 1982, 1491.
- 58- Evans, S.; Kane-Maguire, L.A.P., unpublished results.
- 59- Chung, Y.K.; Sweigart, D.A., unpublished results.
- 60- Pauson, P.L. *J.Organomet.Chem.* 1980, 200, 207.
- 61- Hackett, P.; Johnson, B.F.G.; Lewis, J.; Jaouen, G. *J.Chem.Soc., Dalton Trans.* 1982, 1247.
- 62- D.M Birney, A.M. Crane, et D.A Sweigart, *J.Organomet.Chem.*, 1978, 152, 187.
- 63- Cosslett et L.A.P.Kane-Maguire, *J.Organomet.Chem.*, 1979, 178, C17.
- 64- T.I. Odiaka et L.A.P. Kane-Maguire, *Inorg.Chim.Acta*, 1979, 37, 85.
- 65- A.J. Birch, K.B. Chamberlain et D.J. Thompson, *J.Chem.Soc.Perkin I* , 1900 (1973).
- 66- Christopher E.Anson, Colin S.creaser, Orsolya Egyed, Mark A.Fey et G.Richard Stephenson, *J.Chem.Soc., Chem.Commun.*, 1994.
- 67- Gérard Jaouan, Anne Vessières, Siden Top, Monique Savignac et Ashraf A.Ismail, *Organometallics* 1987, 6, 1985-1987.
- 68- Abdelaziz Gorfti, Michèle Salmain, Gerard Jaouan, Michael J.McGlinchey, Abdelaziz Bennouna et Abdelhamid Mousser, *Organometallics*, 1996, 15, 142-151.
- 69- Michèle Salmain, Michèle Gunn, Abdelaziz Gorfti, Siden Top et Gérard Jaouen, *Bioconjugate Chem.* 1993, 4, 425-433.
- 70- Michèle Salmain, Gérard Jaouen, *C.R.Chimie* 6 (2003), 249-258.

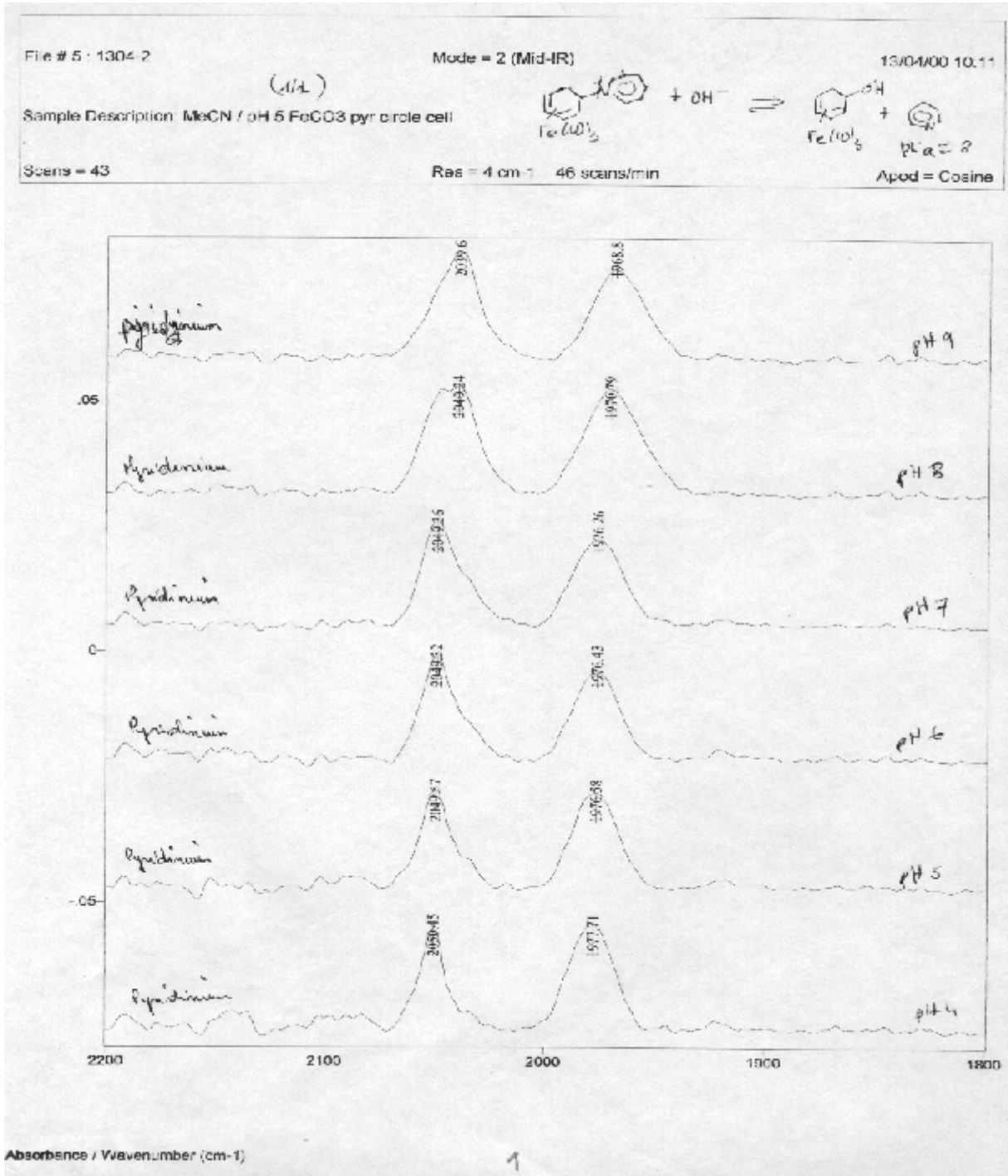
- 71- Leon A.P. Kane-Maguire et David J.Evans, *Inorganica Chimica Acta*, 62 (1982) 109-112.
- 72- a) J. Evans, D.V. Howe, B.F.G. Johnson, et J. Lewis, *J.Organomet.Chem.*, 1973, 61, C48.
b) J.A. McCleverty et A.J. Murray, *J.Organomet.Chem.*, 1978, 149, C29.
c) F. Pesa et M. Orchin, *ibid.*, 1976, 108, 135.
- 73- a) Braterman, P.S. *Metal Carbonyl Spectra*; Academic Press: London, 1975.
b) Anson, C.E. ; Creaser, C.S. ; Egyed, O.; Fey, M.A.;Stephenson, G.R. *J.Chem.Soc., Chem.Commun.* 1994, 39-40.
- 74- Christopher E.Anson, TinaJ.Baldwin, Colin S. Creaser, Mark A.Fey, et G.Richard Stephenson, *Organomettalics* 1996, 15, 1451-1456.
- 75- a) Nuccitelli,R., Deamer,D.W., Eds.*Intracellular pH* ; Liss: New York, 1982.
b) Creaser, C.S.; Fey, M.A.; Stephenson,G.R. *Spectrochim.Acta* 1994, 50A, 1295-1299.
- 76- Varenne, A.; Vessières, A.; Salmain, M.; Brossier, P.; Jaouan, G. *Immunoanal.Biol. Spec.* 1994, 9, 205-214.
- 77- Christopher E.Anson, Colin S. Creaser, Orsolya Egyed, Mark A. Fey and G.Richard Stephenson, *J. Chem.Soc., Chem. Commun.*, 1994, 39-40.
- 78- Christopher E. Anser, Colin S. Creaser, Orsolya Egyed, G.Richard Stephenson, *Spectrochimica Acta Part A* 53 (1997) 1867-1877.
- 79- Salmain, M.; Vessieres, A.; Jaouan, G.; Butler, I.S. *Anal.Chem.* 1991, 63, 2323-2329.
- 80- a) A. Varenne, A. Vessières, M. Salmain, P. Brossier, G. Jaouen, *J.Immunological Methods*, 186 (1995) 195-204.
b) A. Vessières, M. Salmain, P.Brossier, G. Jaouen, *J.Pharm.Biomed. Anal.*, 21, 625-633, 1999.
c) M. Salmain, A. Vessières, A. Varenne, P. Brossier, G. Jaouen, *J.Organomet. Chem.*, 589, 92-97, 1999.
- 81- Gérard Jaouen, Anne Vessières, Siden Top, Michèle Salmain, *Act. Chim. (R)* 1997, 1, 4-12.
- 82- Andrej V. Malkov, Ljubica Majovic, G.Richard Stephenson, Andrew T. Turner, Colin S.Creaser, *J.Organomet.Chem.* 589 (1999) 103-110.
- 83- a) John A. Carver, Betty Fates and Leon A.P. Kane-Maguire, *J. Chem. Soc..Chem.Commun.*, (1993), 928-929.

- b) Shanlin Fu, John A. Carver and Leon A.P. Kane-Maguire, *J.Organomet.Chem.* 454 (1993) C11-C12.
- 84- Michael Brinkley, Teaching Editorial, *Bioconjugate Chem.*, Vol. 3, N° 1, 1992.
- 85- Jaouen, G., Vessières, A., Top, S., Ismail, A.A., and Butler, I.S. (1985)
*J.Am.Chem.Soc.*107, 4778-4780.
- 86- Vessières, A., Top,S., Ismail, A.A., Butler, I.S., Louer, M., and Jaouen, G.(1988)
Biochemistry 27,6659-6666.
- 87- Salmain, M., Vessières, A., Brossier, P., Butler, I.S., and Jaouen, G. (1992). *J. Immunol. Methods* 148, 65-75.
- 88- Varenne, A., Vessières, A., Brossier, P., Jaouen,G., *Res. Comm.Chem. Pathol Pharmacol.*,1994,84,p.81-92.
- 89- Salmain, M. , Ph. D. Thesis, Université Paris VI, 1990.
- 90- Butler, I.S., Vessières, A., Jaouen, G. *Comments Inorg. Chem.* 1989,8 ,269-286.

ANNEXE

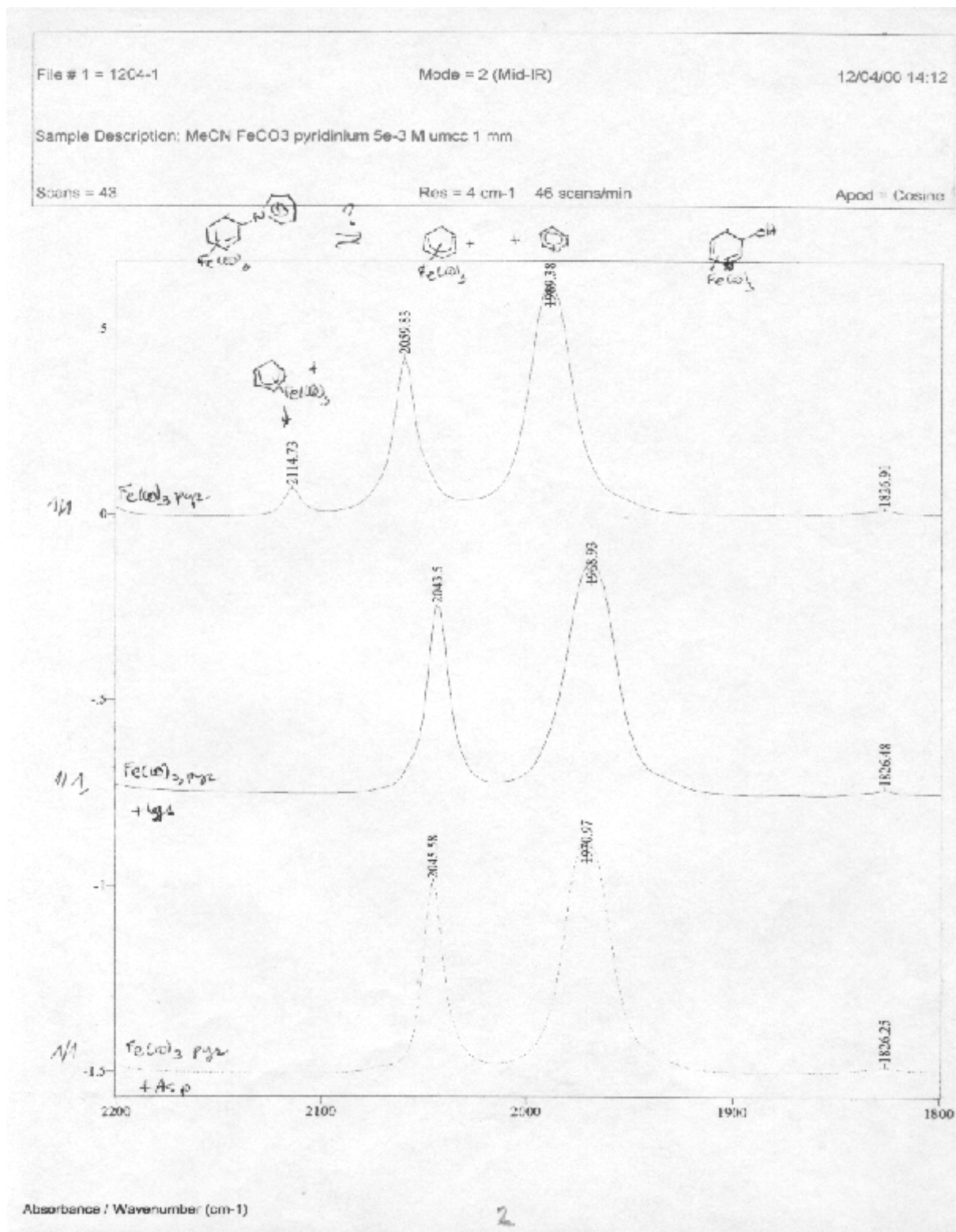
Etude cinétique qualitative de la réaction de couplage des complexes marqueurs fer tricarbonyles avec des ligands organiques par FT-IR

Spectre 1 : Contrôle de la stabilité relative du complexe marqueur tétrafluoroborate 1-4- η -5-pyridinio cyclohexa-1,3-diène fer tricarbonyle (Fe^+Pyr) dans MeCN à différents pH par FT-IR



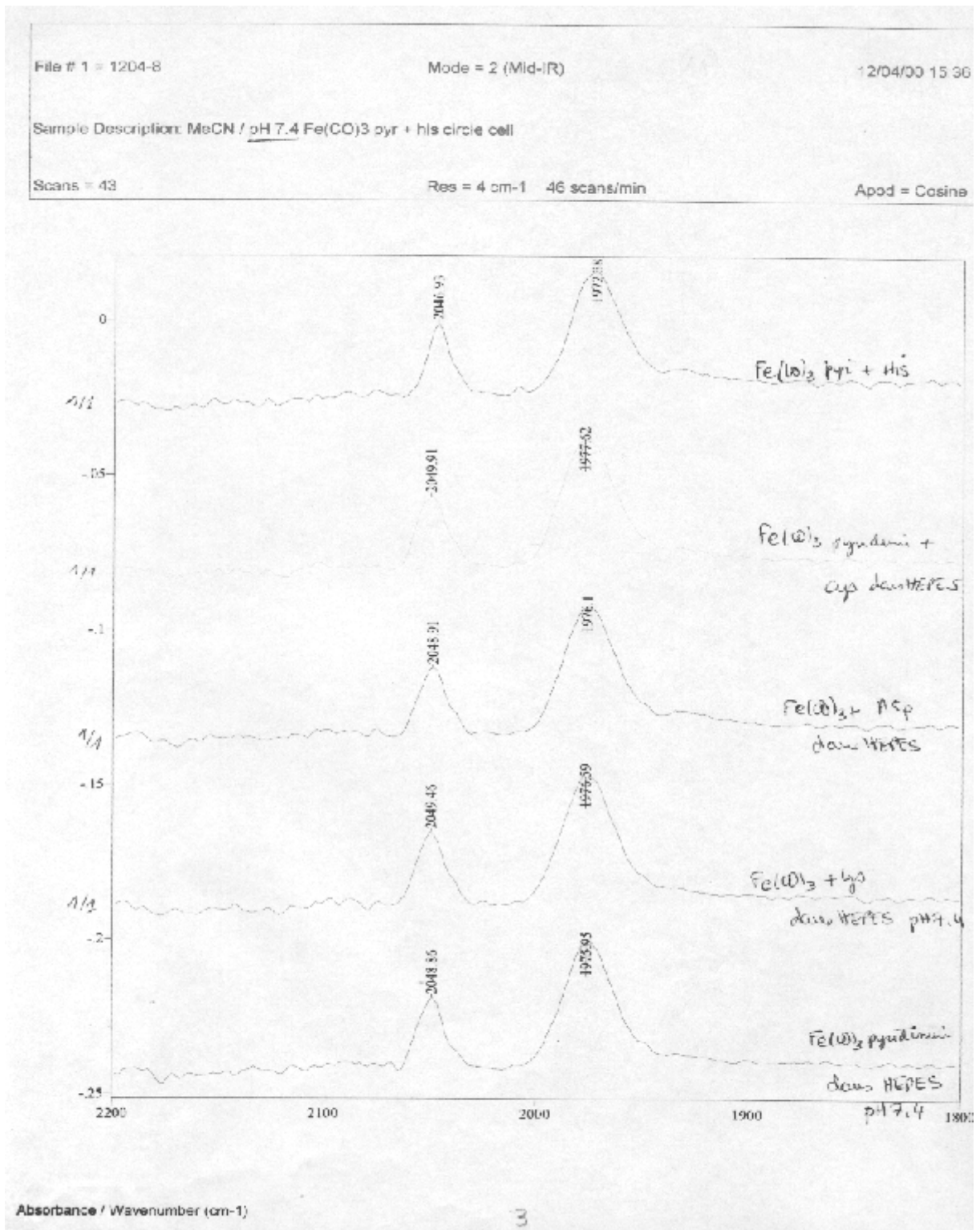
Le complexe marqueur Fe^+Pyr est stable à pH compris entre 4 et 8. A partir de pH= 8 ; la pyridine se dissocie et l'alcool cyclohexadiényl fer tricarbonyl se forme.

Spectre 2 : Contrôle de la réaction du complexe marqueur Fe^+Pyr avec la lysine méthyl ester et l'acide aspartique diméthyl ester (1éq./1éq.) dans MeCN par FT-IR.



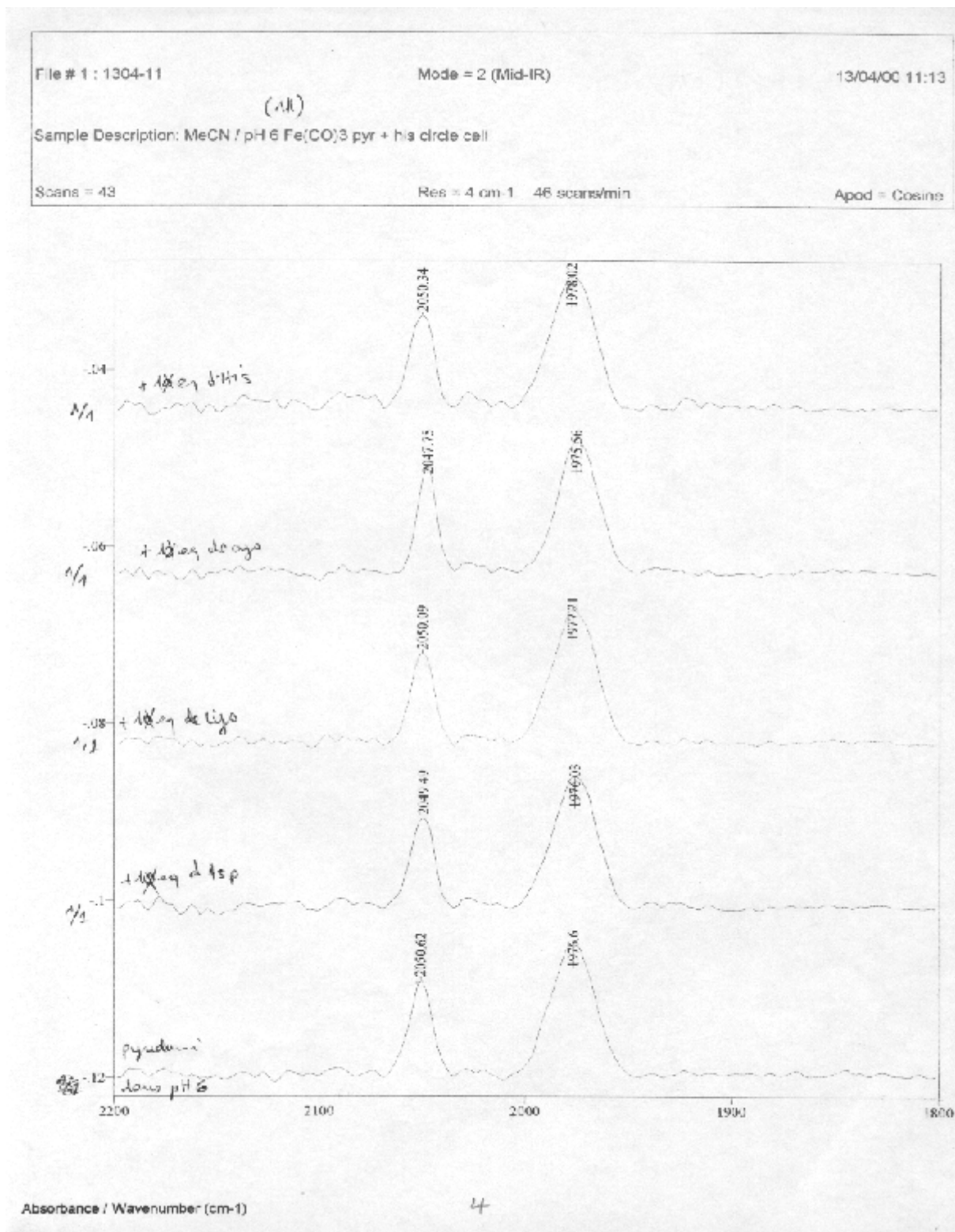
Déplacement à droite des bandes $\nu\text{C}\equiv\text{O}$ des deux substrats par rapport au produit de départ ; la réaction a bien évolué.

Spectre 3 : Contrôle de la réaction du complexe marqueur Fe^+Pyr avec la lysine méthyl ester, l'acide aspartique diméthyl ester, la N-acétyl cystéine et l'histidine méthyl ester (1équ./ 1équ.) dans MeCN à pH = 7,4 par FT-IR.



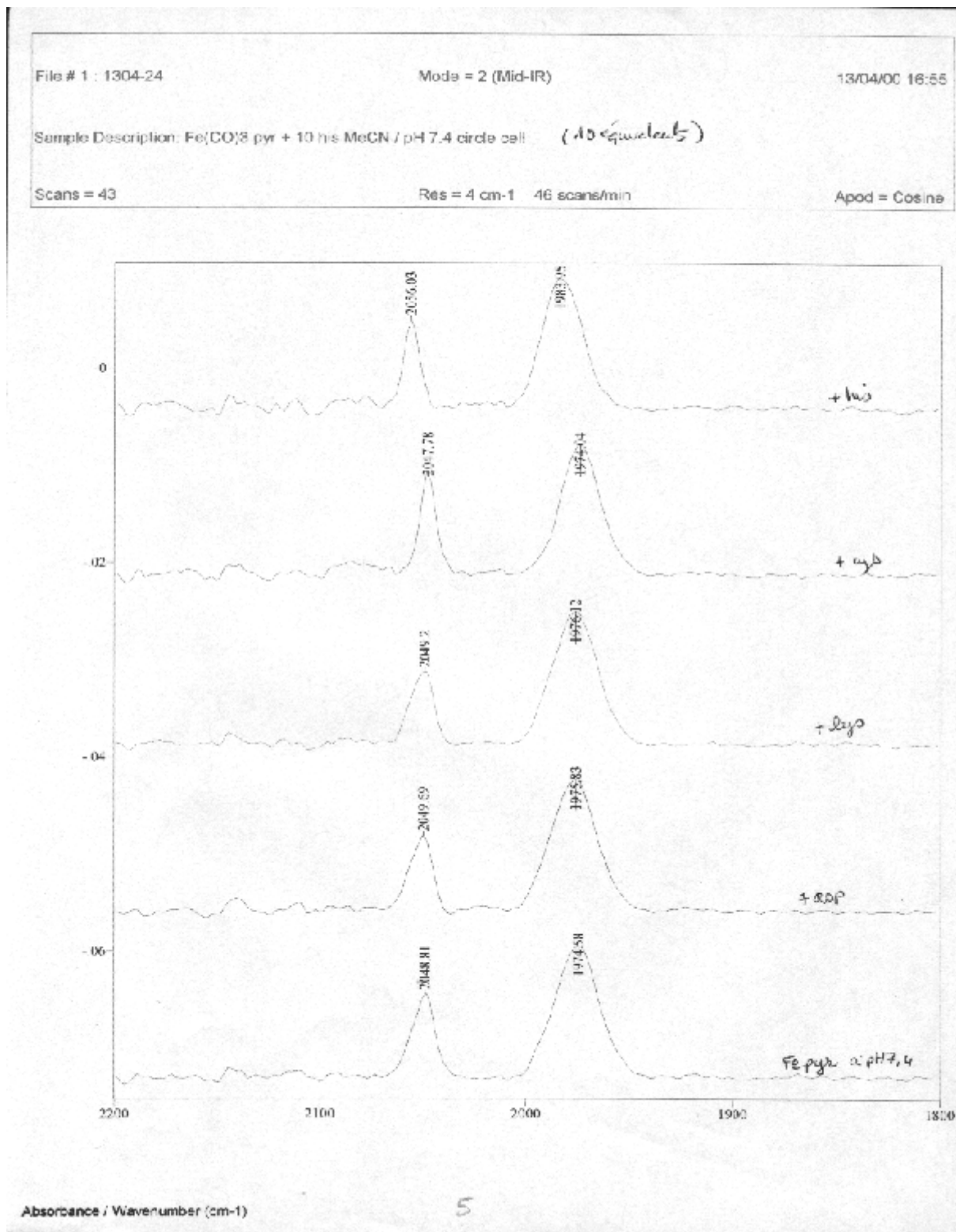
Léger déplacement à droite des bandes $\nu\text{C}\equiv\text{O}$ de l'histidine méthyl ester et de la N-acétyl cystéine. La réaction n'a presque pas évolué pour les autres acides aminés à pH = 7,4.

Spectre 4 : Contrôle de la réaction du complexe marqueur Fe^+Pyr avec l'acide aspartique diméthyl ester, la lysine méthyl ester, la N-acétyl cystéine et l'histidine méthyl ester (1équ./ 1équ.) dans MeCN à pH = 6 par FT-IR.



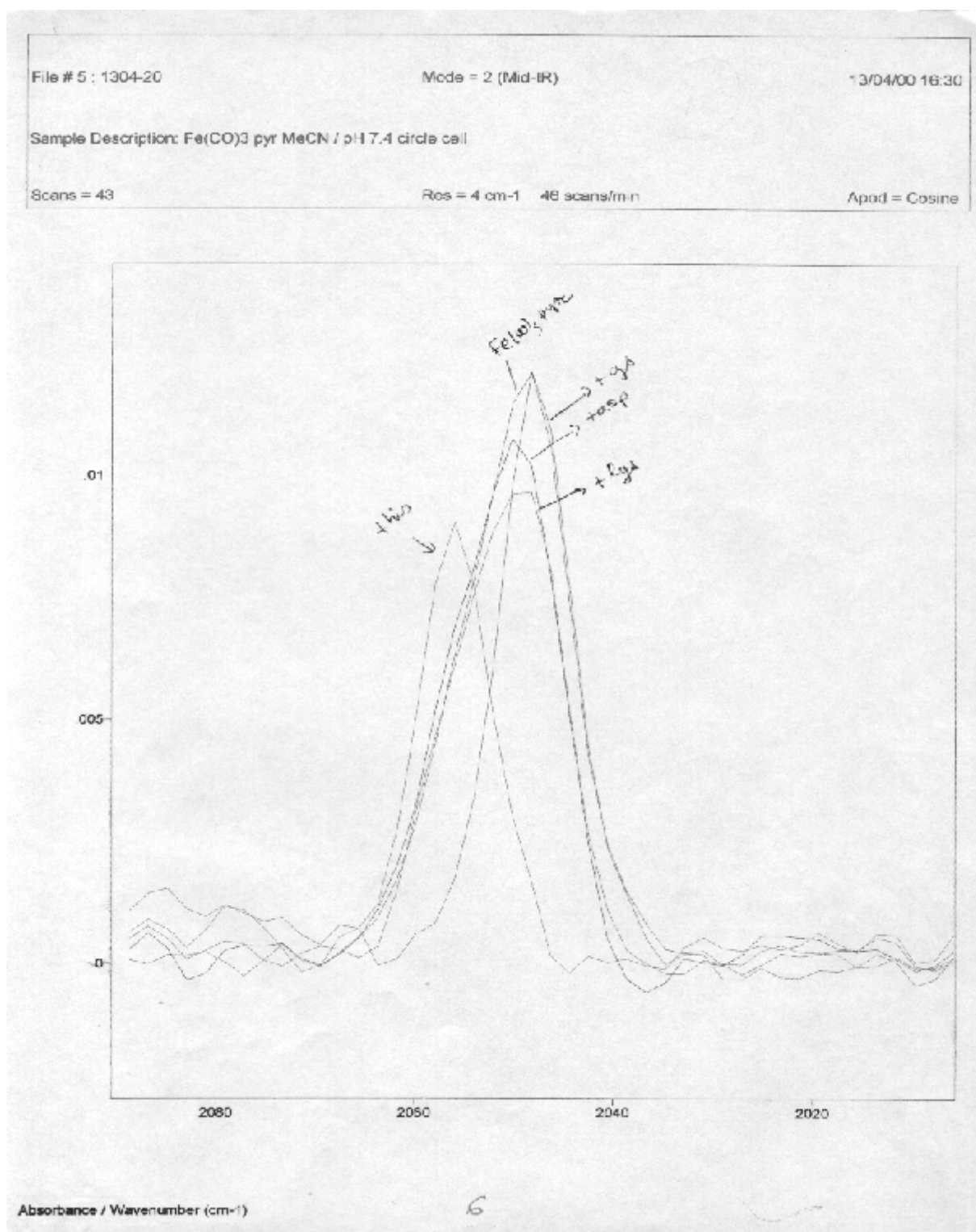
Léger déplacement à droite des bandes $\nu\text{C}\equiv\text{O}$ de la N-acétyl cystéine et de l'histidine méthyl ester. Résultat moins bon qu'à pH = 7,4.

Spectre 5 : Contrôle de la réaction du complexe marqueur Fe^+Pyr avec l'acide aspartique diméthyl ester, la lysine méthyl ester, la N-acétyl cystéine et l'histidine méthyl ester (1équ./ 10équ.) dans MeCN à pH = 7,4 par FT-IR



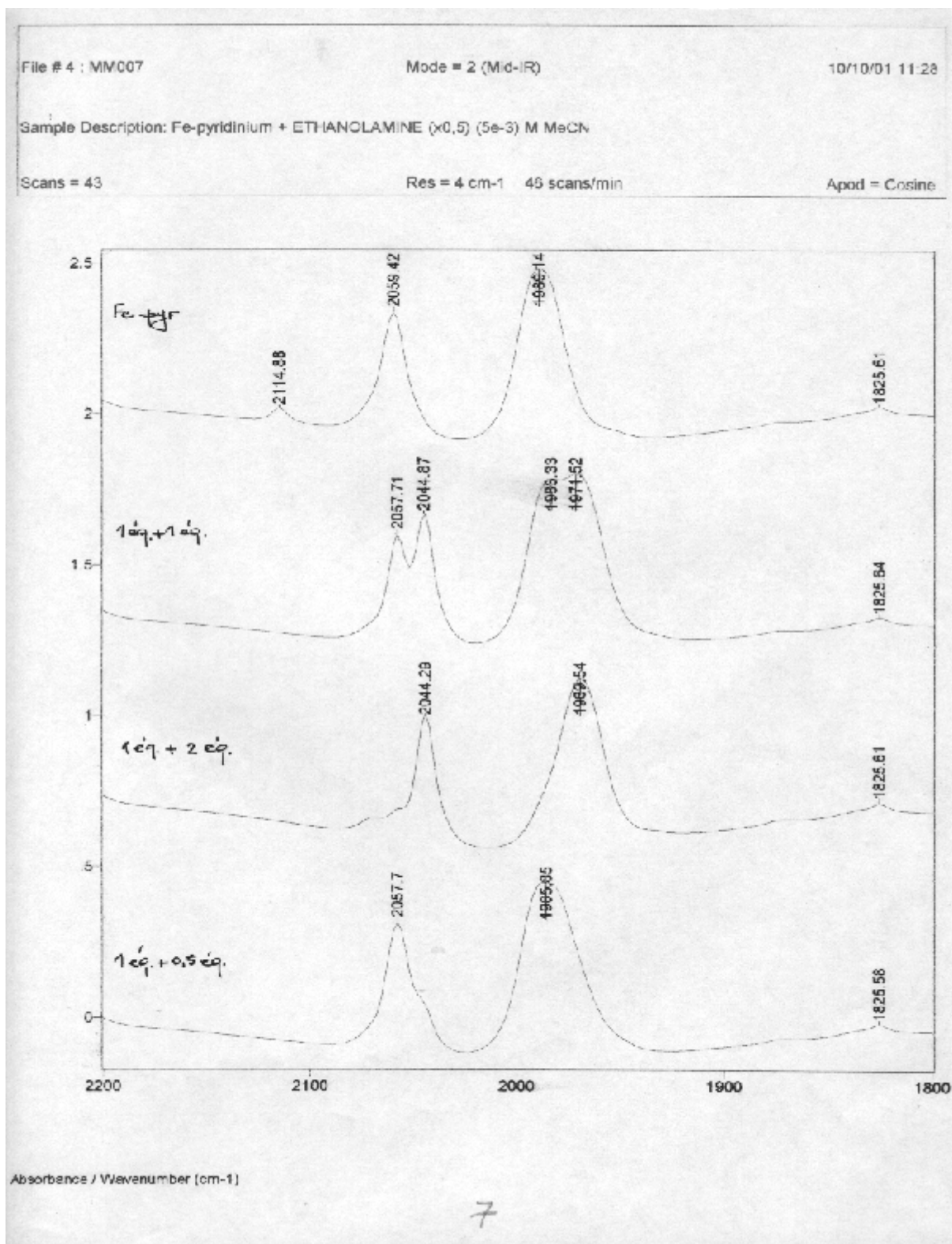
Déplacement à gauche des bandes $\nu\text{C}\equiv\text{O}$ de l'histidine méthyl ester.
Réaction positive.

Spectre 6 : Juxtaposition des bandes $\nu_{C\equiv O}$ ($2040-2060\text{ cm}^{-1}$) de la réaction du complexe marqueur Fe^+Pyr avec l'acide aspartique diméthyl ester, la lysine méthyl ester, la N-acétyl cystéine et l'histidine méthyl ester (1éq./10éq.) dans MeCN à $\text{pH} = 7,4$ par FT-IR.



L'histidine méthyl ester sort du lot des bandes $\nu_{C\equiv O}$ du complexe de départ Fe^+Pyr et des autres acides aminés.

Spectre 7 : Contrôle de la réaction du complexe marqueur Fe^+Pyr avec l'éthanolamine (1éq./ 1 ; 2 ; 0,5 éq.) dans MeCN par FT-IR.

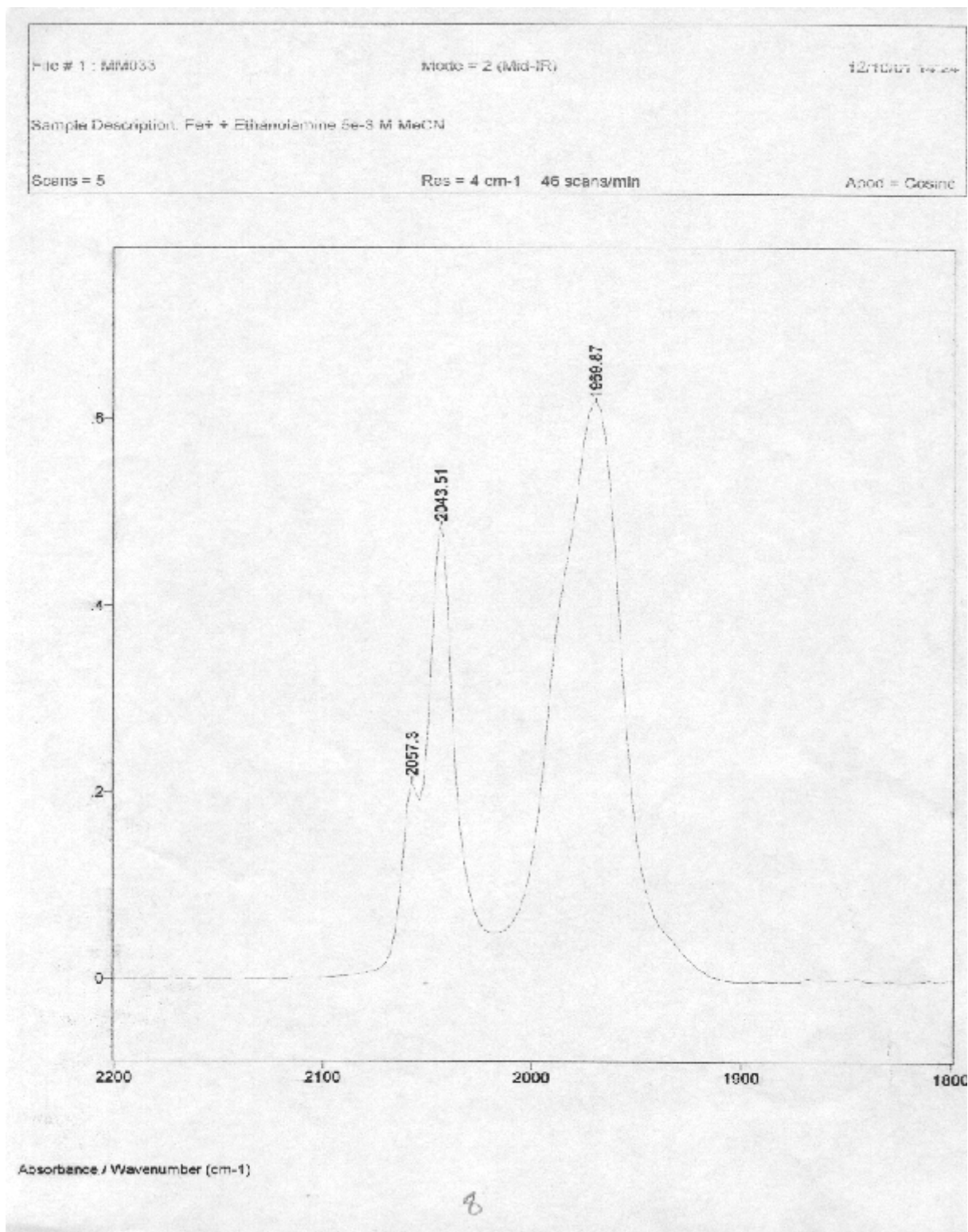


(1éq./ 1 éq.) : Réaction instantanée donnant un mélange d'espèces (pics larges).

(1éq./ 2 éq.) : Réaction instantanée donnant un seul produit.

(1éq./ 0,5 éq.) : Pas d'évolution (produit de départ).

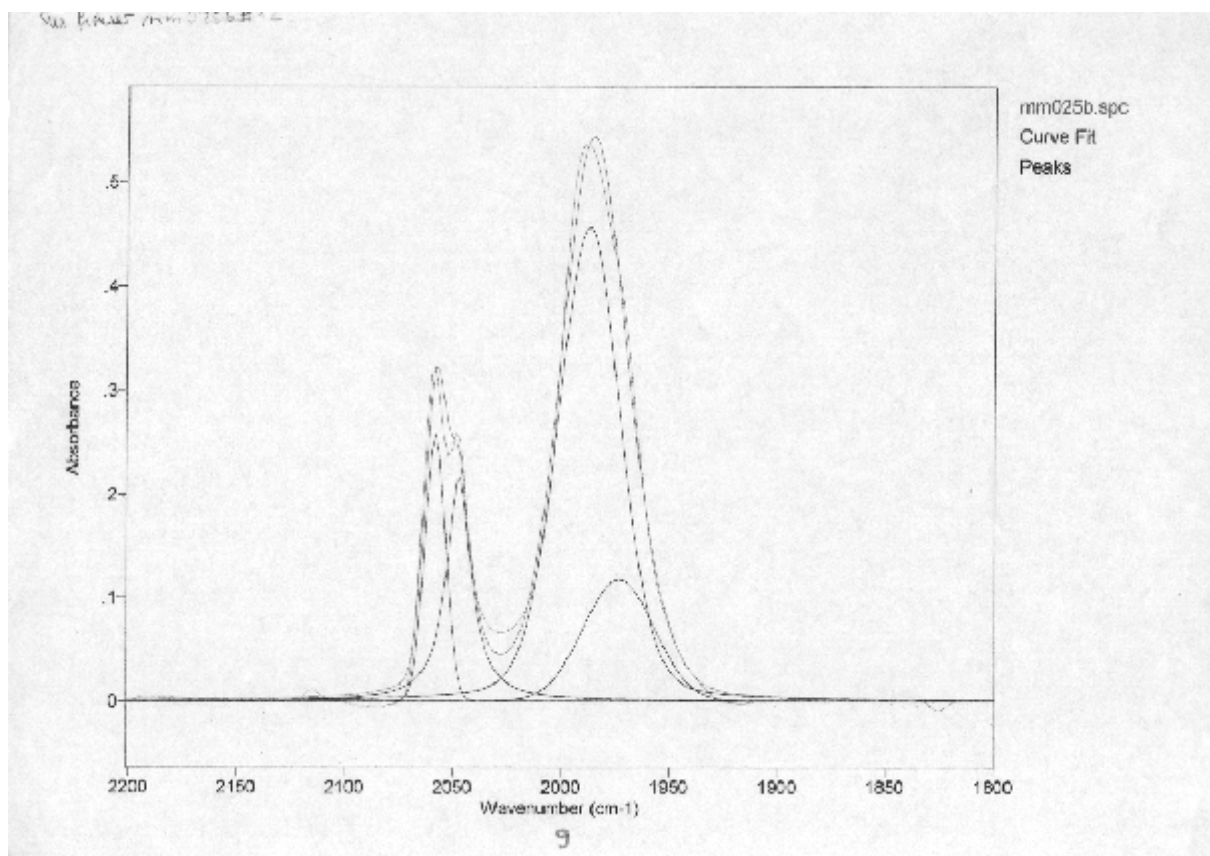
Spectre 8 : Contrôle de la réaction du complexe marqueur Fe^+Pyr avec l'éthanolamine (1 équ./ 1 équ.) dans MeCN par FT-IR.



Réaction instantanée.

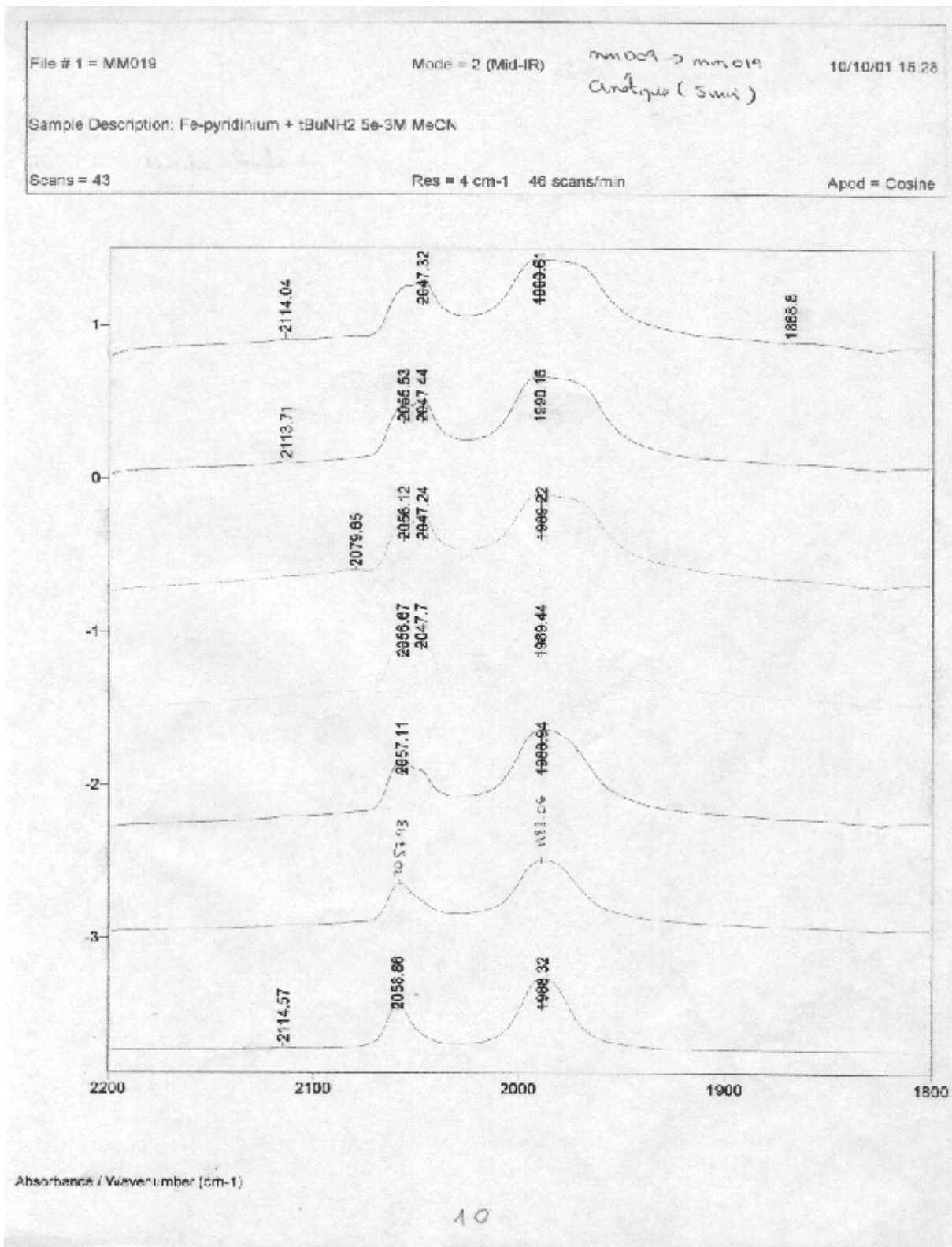
3 bandes $\nu\text{C}\equiv\text{O}$ à 2057,3 ; 2043,51 ; 1969,87 cm^{-1} .

Spectre 9 : Curvefitting des pics larges (avec épaulement) à 2057,3 ; 2043,51 ; 1969,87 cm^{-1} .
du spectre 8.



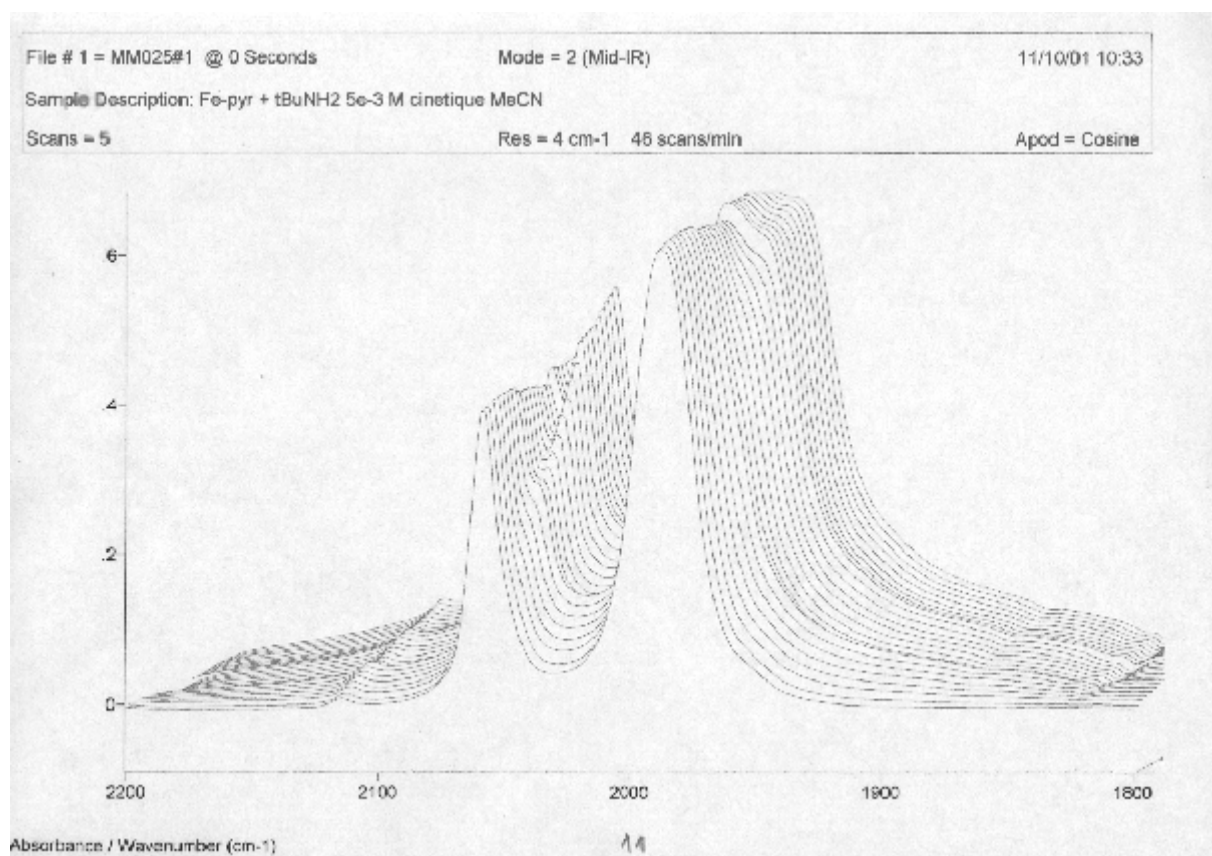
Le curvefitting des pics larges révèle la présence d'autres bandes $\nu\text{C}\equiv\text{O}$.

Spectre 10 : Contrôle de la réaction du complexe marqueur Fe⁺Pyr avec la tertiobutylamine (1équ./ 1 équ.) dans MeCN par FT-IR



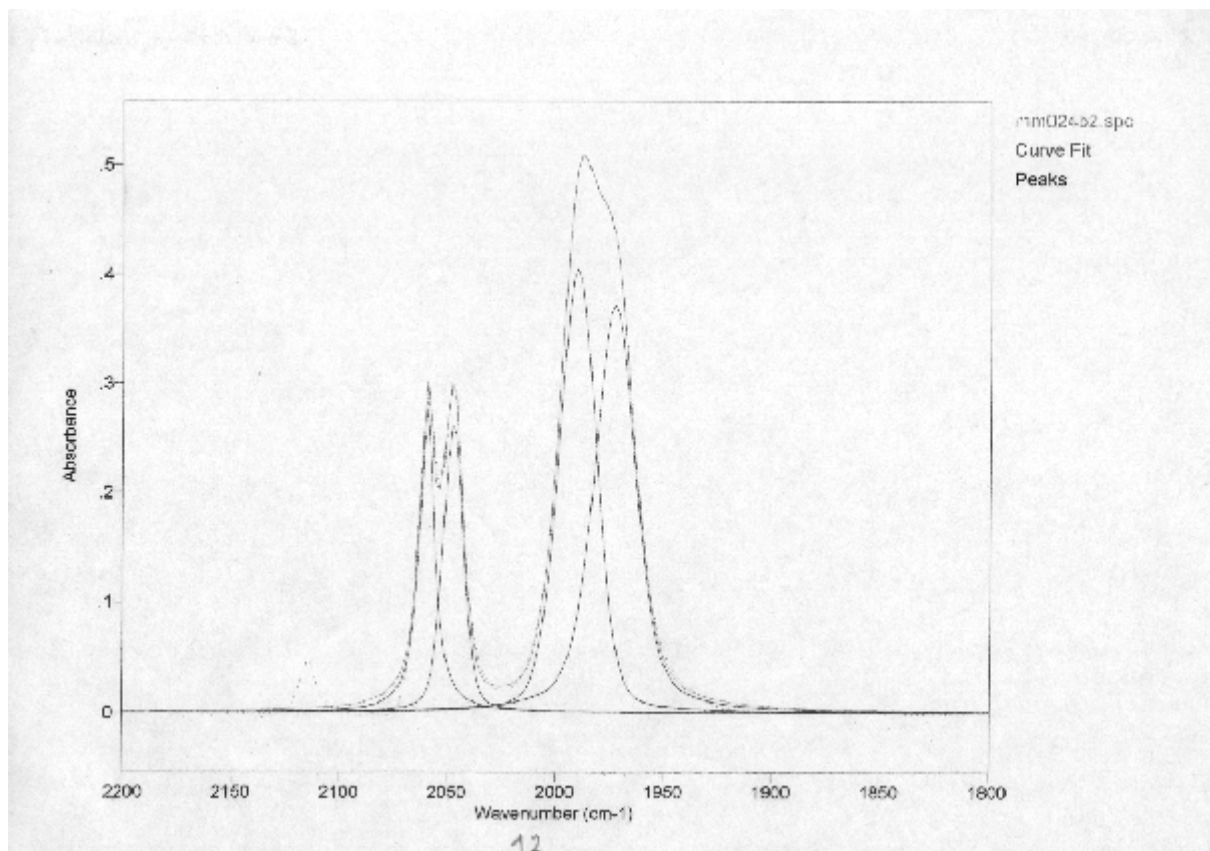
Réaction lente (calcul de vitesse ; voir spectre 10).

Spectre 11 : Cinétique de la réaction du complexe marqueur Fe^+Pyr avec la tertibutylamine (1équ./ 1 équ.) dans MeCN par FT-IR



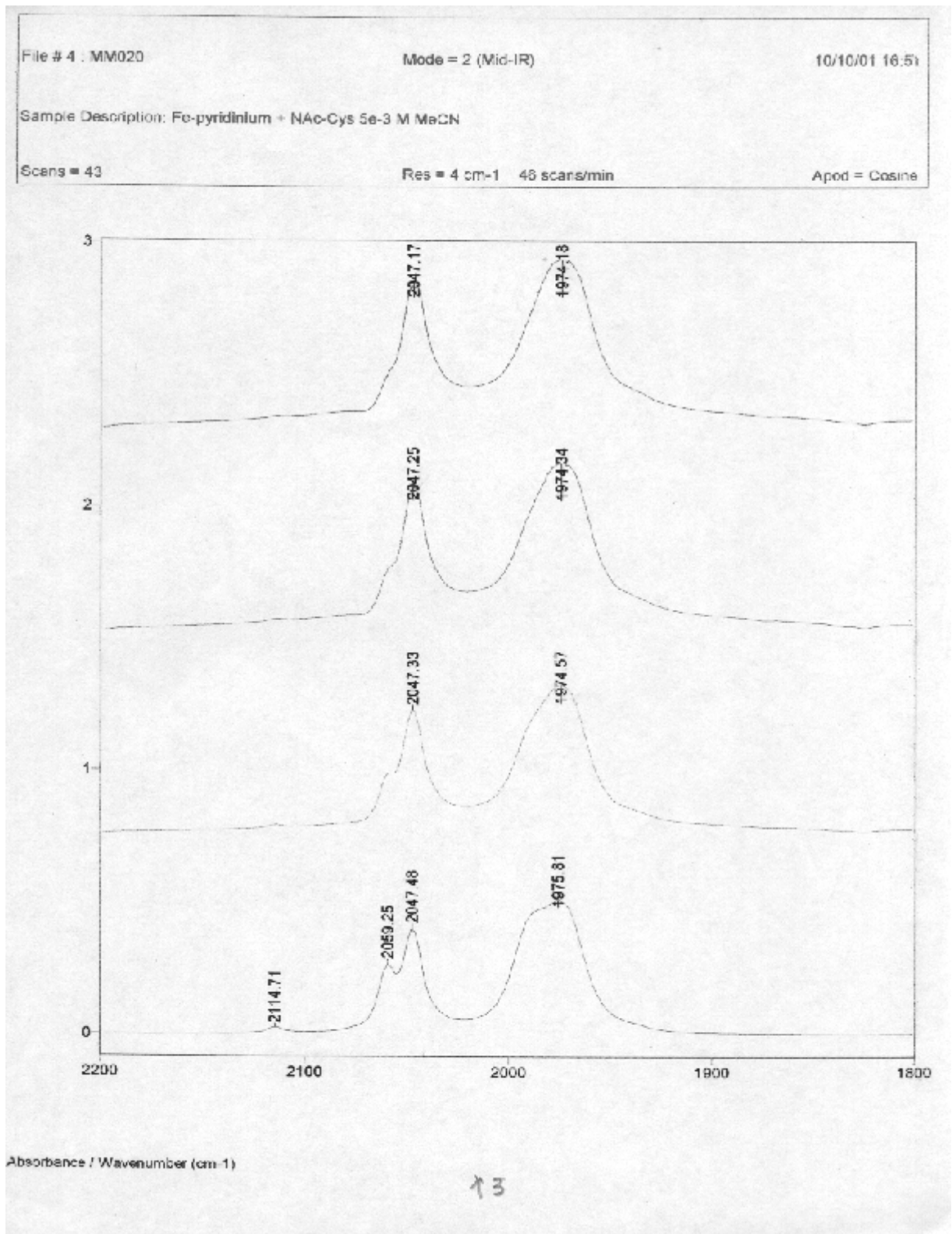
Réaction lente.
25 spectres toutes les 3 minutes.
Calcul de vitesse.

Spectre 12 : Curvefitting des pics larges à 2045,6 et 1970,1 cm^{-1} du spectre 10 (1équ./1équ.)



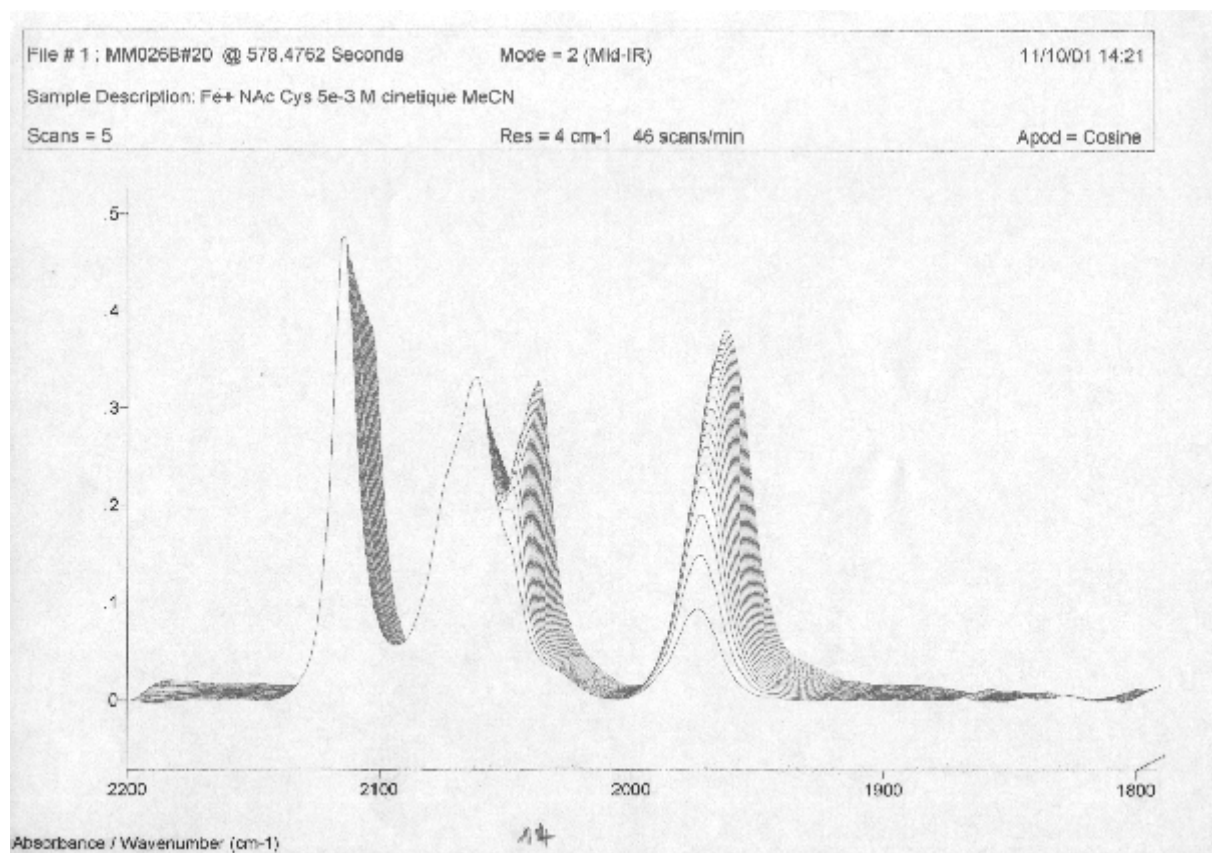
Le curvefitting révèle la présence d'autres bandes $\nu\text{C}\equiv\text{O}$.

Spectre 13 : Contrôle de la réaction du complexe marqueur Fe⁺Pyr avec la N-acétylcystéine (1équ./ 1 équ.) dans MeCN par FT-IR



Réaction lente (calcul de vitesse ; voir spectre 14).

Spectre 14 : Cinétique de la réaction du complexe marqueur Fe^+Pyr avec la N-acétylcystéine (1 équ./ 1 équ.) dans MeCN par FT-IR

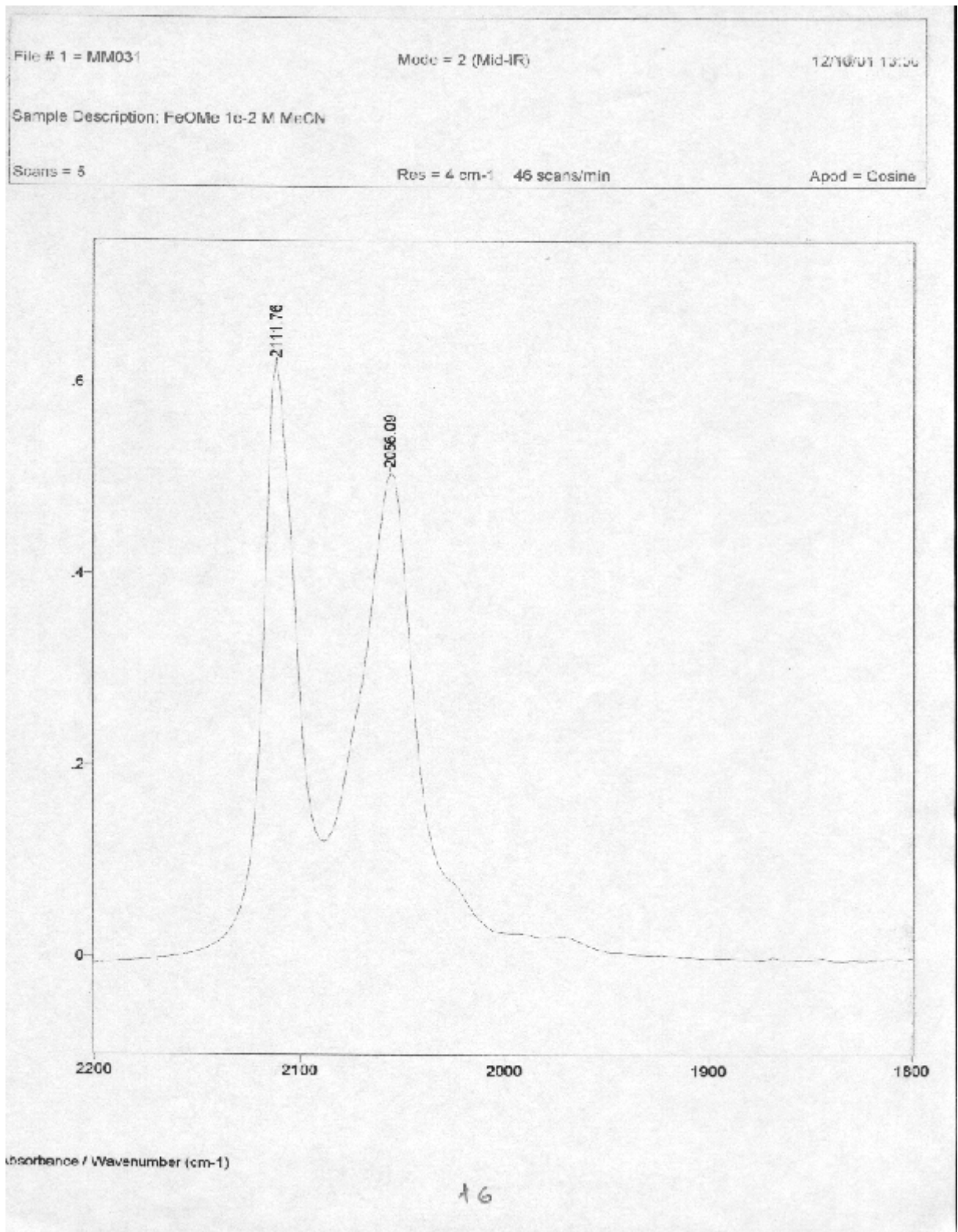


Réaction lente

27 spectres toutes les 30 secondes

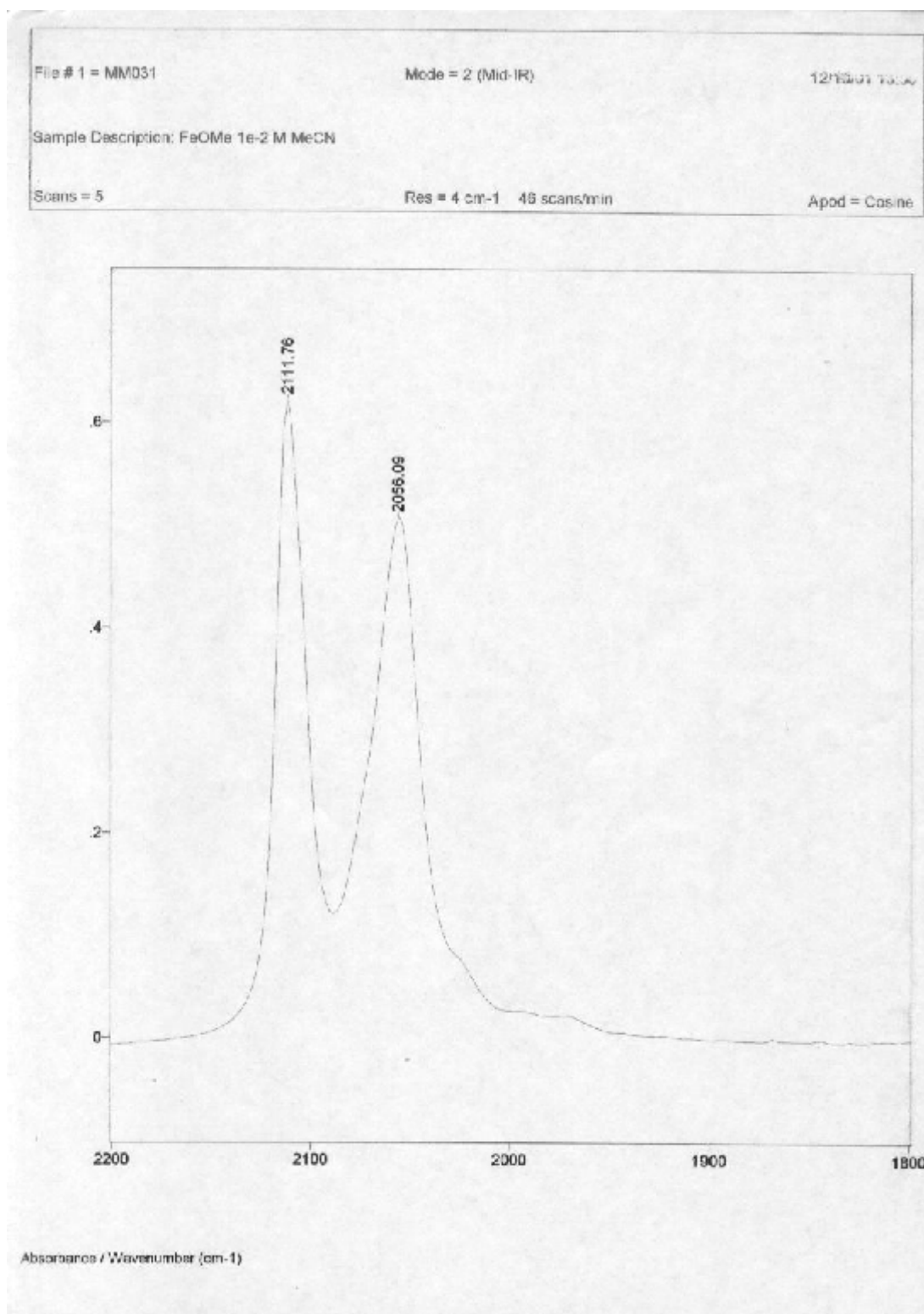
Calcul de vitesse

Spectre 15 : Contrôle de la réaction du complexe marqueur Fe⁺Pyr avec la N-acétyl histamine (1 équ./ 1 équ.) dans MeCN par FT-IR



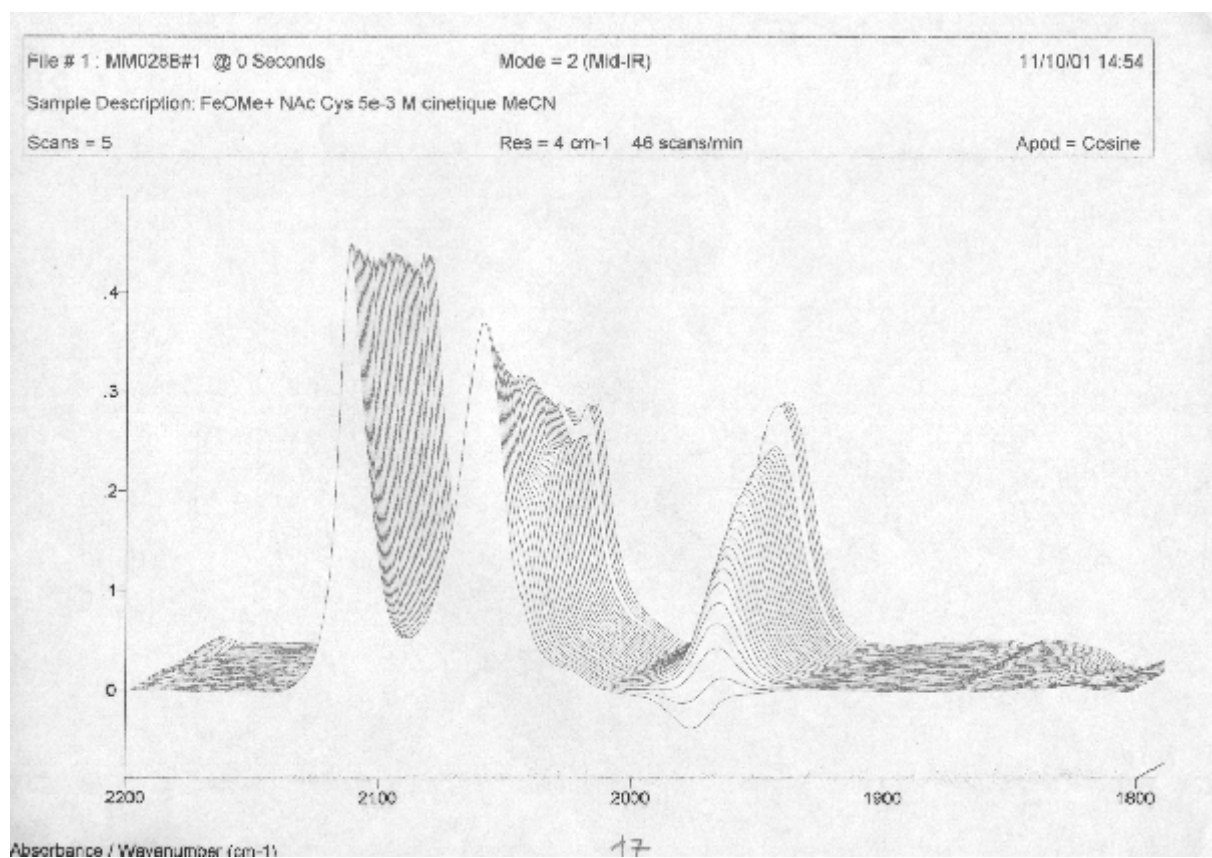
Réaction instantanée.
2 bandes $\nu\text{C}\equiv\text{O}$ à 2056,68 et 1985,65 cm⁻¹.

Spectre 16 : Bandes $\nu\text{C}\equiv\text{O}$ du cation marqueur 1-méthoxy cyclohexadiényl fer tricarbonyle (Fe^+OMe) dans MeCN par FT-IR.



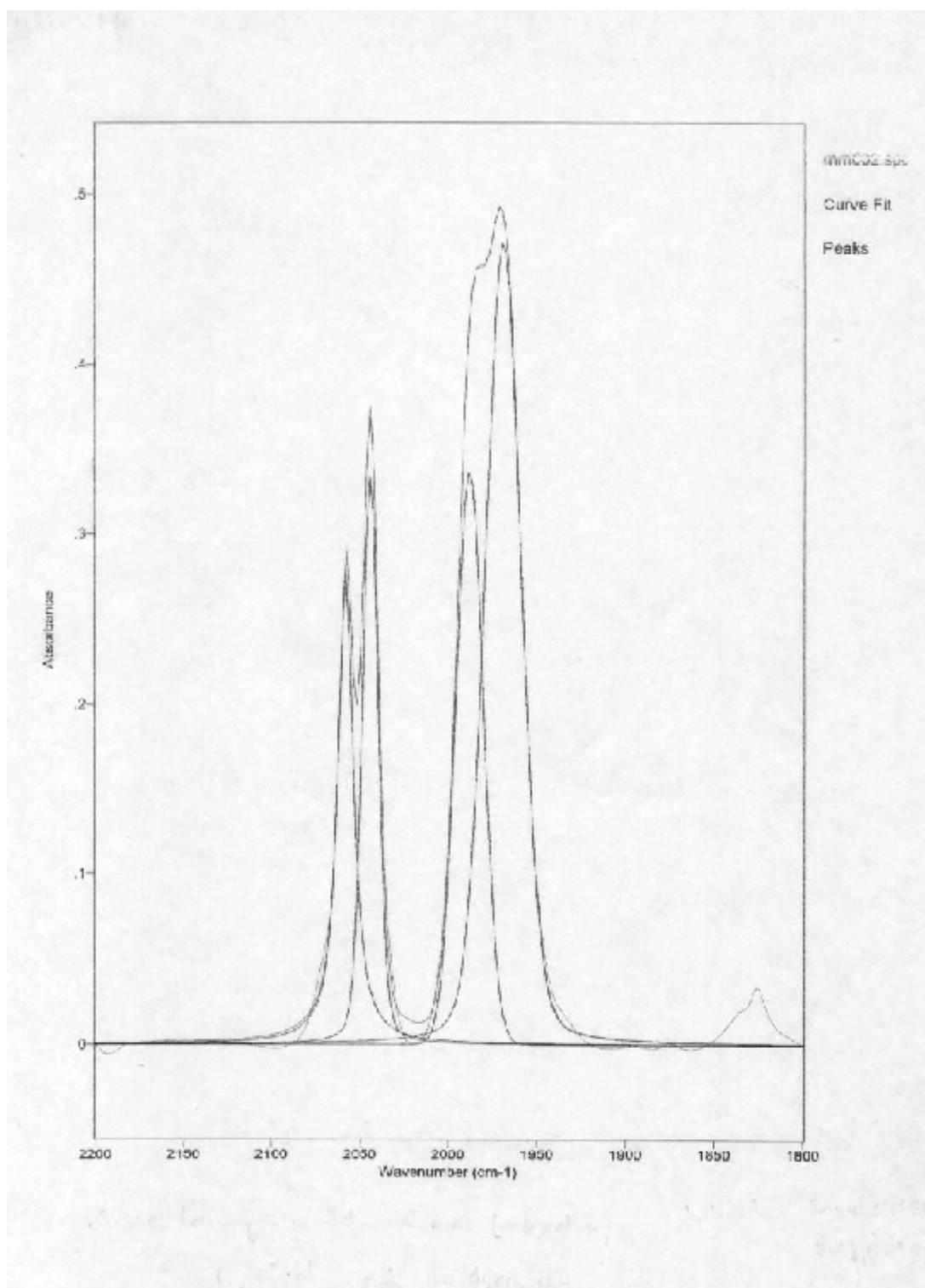
2 bandes $\nu\text{C}\equiv\text{O}$ à 2111,76 et 2056,09 cm⁻¹.

Speetre 17 : Cinétique de la réaction du complexe marqueur Fe⁺OMe avec la N-acétyl cystéine (1 équ./ 1 équ.) dans MeCN par FT-IR



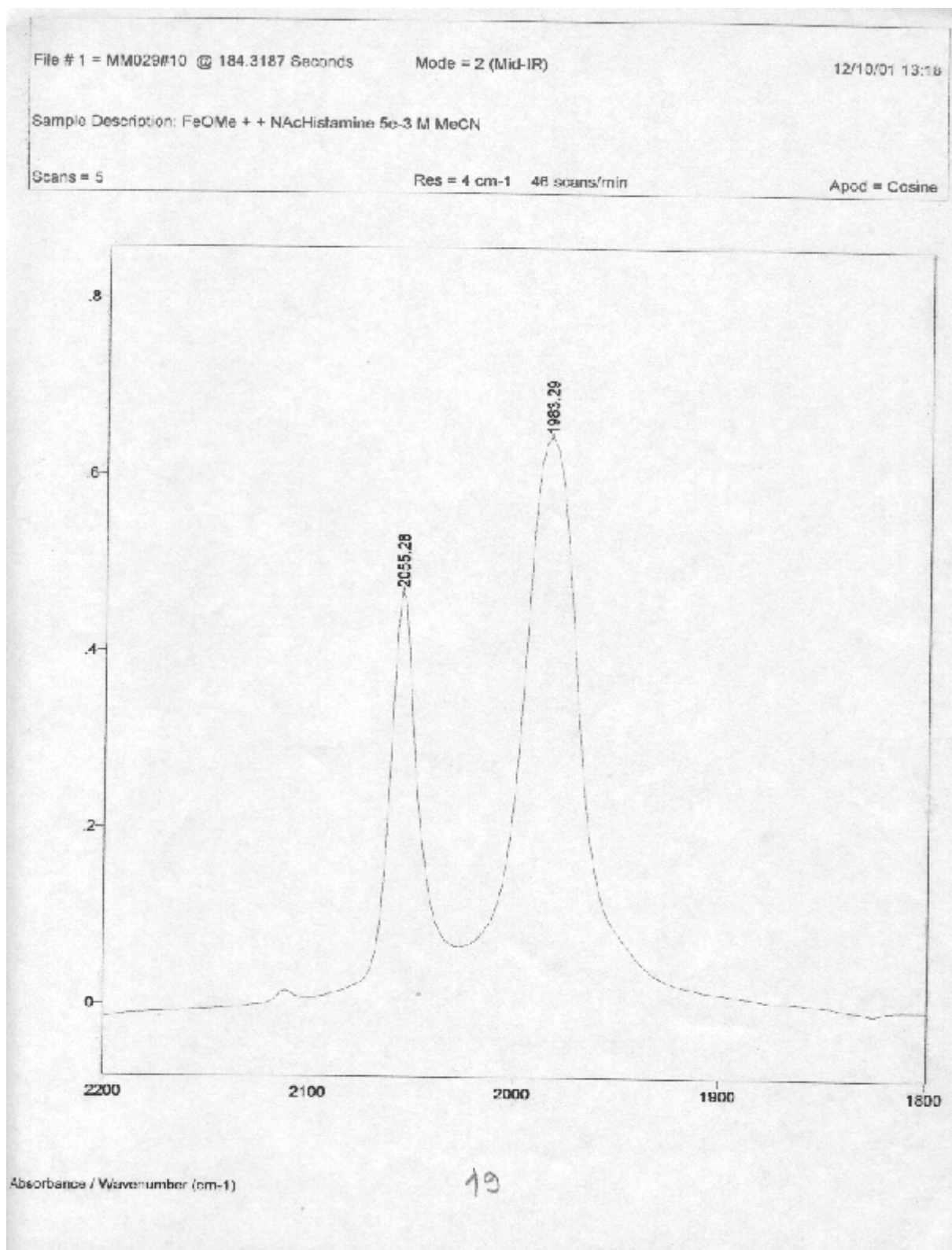
Réaction lente.
30 spectres toutes les 60 secondes.
calcul de vitesse.

Spectre 18 : Curvefitting des pics larges (avec épaulement) à 2046,1 et 1970,9 cm^{-1} du spectre 17.



Le curvefitting révèle la présence d'autres bandes $\nu\text{C}\equiv\text{O}$.

Spectre 19 : Contrôle de la réaction du complexe marqueur Fe^+OMe avec la N-acétyl histamine (1éq./ 1 éq.) dans MeCN par FT-IR



Réaction instantanée
2 bandes $\nu\text{C}\equiv\text{O}$ à 2055,28 et 1983,29 cm^{-1}

Abstract

The Objective of this work is the covalent labelling of proteins with transition organometallic complexes. Thus attachment of organometaltricarbonyl to nucleophilic groups borne by biomolecules (amines, thiols ...etc) in a side –chain-selective and covalent manner is most recently studied.

Transition-metal-carbonyl complexes, because of their unique spectroscopic properties in the mid-IR range, are now established as useful bioprobes for studies involving high-affinity biological recognition phenomena, such as oestrogen receptorology, immunoanalysis (CMIA) and other ligand-protein interactions.

Tricarbonyl cyclohexa-1,3-diene iron (0) derivatives of two biologically active molecules, N-acetyl cysteine and N-acetyl histamine and of a primary amine, n-butylamine, have been prepared by reaction of [tricarbonyl(1-4- η -5-N-pyridiniocyclohexa-1,3-diene)iron] tetrafluoroborate, a precursor of the highly reactive cation $[\text{Fe}(\text{CO})_3(1-5-\eta\text{-C}_6\text{H}_7)]^{(+)}$, and characterized spectroscopically (IR, RMN ^1H) and by elementary analysis.

Kinetic studies revealed that the reaction of N-acetyl histamine and n-butylamine was much faster than the reaction of N-acetyl cysteine. Acid / base titration of metal-carbonyl labelled histamine was achieved by IR spectroscopy and revealed that the imidazole ring substituted by the metal-carbonyl unit was slightly more basic than the parent compound.

Keywords

Tricarbonyl iron complexes, Labelling of proteins, Kinetics, Spectroscopy FT-IR.

Résumé

L'objectif de ce travail est d'élaborer de nouveaux complexes à base de métaux de transition capables de se lier avec les protéines de façon covalente.

En effet, l'introduction des métaux de transition sur les sites spécifiques des biomolécules par couplage covalent est une des techniques les plus étudiées à l'heure actuelle.

En raison de leurs signaux spécifiques en spectroscopie IR, les complexes métaux carbonyles constituent des sondes aisément détectables pour les études fines des phénomènes biologiques comme la réceptorologie des oestrogènes, l'immunoanalyse (C.M.I.A.) et les interactions ligands protéines.

Notre contribution dans ce domaine consiste d'abord à préparer le complexe tétrafluoroborate 1-4- η -5-pyridinio 1,3-cyclohexadiène fer tricarbonyle, un précurseur du cation très réactif $[\text{Fe}(\text{CO})_3(1-5-\eta\text{C}_6\text{H}_7)]^+$ capable de réagir avec les sites nucléophiles protéiques (amines, thiols, ...etc).

Le couplage du complexe tétrafluoroborate 1-4- η -5-pyridinio 1,3-cyclohexadiène fer tricarbonyle avec différents ligands organiques comportant des groupements fonctionnels nucléophiles protéiques tels que la n-butylamine, la N-acétyl cystéine et la N-acétyl histamine a été réalisé. Les complexes marqués ont été purifiés et analysés par les méthodes élémentaires et spectroscopiques (IR, RMN ^1H).

L'étude cinétique de ces réactions de couplage et le dosage acido-basique du complexe 1-4- η -5-N-acétyl-histaminio 1,3-cyclohexadiène fer tricarbonyle ont été suivis par spectroscopie IR à Transformée de Fourier (FT-IR).

Cette étude montre que la réaction de couplage avec la N-acétyl histamine et avec la n-butylamine est beaucoup plus rapide que celle avec la N-acétyl cystéine. En outre, la titration acido-basique révèle que le complexe marqué par une sonde fer carbonyle est légèrement plus basique que le ligand organique libre.

Mots clés

Complexes fer carbonyle, Marquage des protéines, Cinétique, Spectroscopie FT- IR.