

**Université de Neuchâtel  
Faculté des Sciences**

**STEREOSELECTIVITE ET MECANISME DE LA REDUCTION  
DE LA PLASTOCYANINE DE L'EPINARD PAR DES COMPLEXES  
OPTIQUEMENTS ACTIFS DE FER (II) ET DE COBALT (III)**

**Thèse présentée à la Faculté des Sciences par**

**JEAN-JACQUES SAUVAIN**

**Chimiste diplômé de l'Université de Neuchâtel  
pour l'obtention du grade de  
Docteur ès sciences**

**Institut de Chimie  
Université de Neuchâtel**

**Mai 1990**

# IMPRIMATUR POUR LA THÈSE

Stéréosélectivité et mécanisme de la réduction  
de la plastocyanine de l'épinard par des  
complexes optiquement actifs de fer(II) et  
de cobalt(II)

de Monsieur Jean-Jacques Sauvain

---

UNIVERSITÉ DE NEUCHÂTEL

FACULTÉ DES SCIENCES

La Faculté des sciences de l'Université de Neuchâtel  
sur le rapport des membres du jury,

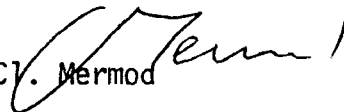
Messieurs K. Bernauer, F. Stoeckli,

P. Schürmann et K. Wieghardt (Bochum)

autorise l'impression de la présente thèse.

Neuchâtel, le 14 novembre 1990

Le doyen :

C. Mermod 

A ma famille.

## Remerciements

Ce travail a été effectué dans les laboratoires de Chimie Inorganique et Analytique de l'Université de Neuchâtel, d'octobre 1986 à mai 1990.

Je voudrais tout d'abord remercier très sincèrement mon directeur de thèse, le Professeur K. Bernauer, pour sa gentillesse et pour l'enthousiasme qu'il a montré tout au long de ce travail. Son humanisme et sa disponibilité ont été très appréciés.

Je remercie également Messieurs P. Schürmann (Université de Neuchâtel), F. Stöckli (Université de Neuchâtel) et K. Wieghardt (Université de Bochum) d'avoir accepté de faire partie du jury de thèse.

Que tous les collègues de travail du département trouvent dans ces quelques lignes l'expression de mes plus vifs remerciements pour leur gaieté et pour les très bon moments passés pendant et après le travail.

Mes remerciements s'adressent également à I. Muriset, C. Spina, D. Günter et S. Pinaud, pour leur aide dans la réalisation de ce travail, ainsi que pour leur gentillesse.

Je remercie également tous les professeurs, assistants et collaborateurs de l'Institut pour l'aide et la disponibilité qu'ils ont eu à mon égard pendant mes études et mon travail de thèse.

Je remercie l'Etat de Neuchâtel pour m'avoir accordé un poste d'assistant.

## Table des matières

### Abréviations

### Chapitre 1 Introduction

|                                   |       |
|-----------------------------------|-------|
| 1.1. Généralités                  | p. 1  |
| 1.2. But du travail               | p. 2  |
| 1.3. Description du système       |       |
| 1.3.1. Plastocyanine de l'épinard | p. 3  |
| 1.3.1.1. Rôle biologique          | p. 3  |
| 1.3.1.2. Aspects structuraux      | p. 5  |
| 1.3.1.3. Aspects réactionnels     | p. 10 |
| 1.3.2. Complexes utilisés         | p. 12 |

### Chapitre 2 Partie expérimentale

|                                                                                                                                                 |       |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| 2.1. Principe de synthèse des ligands                                                                                                           | p. 16 |
| 2.1.1. Bis(bromométhyl)-2,6-pyridine                                                                                                            | p. 18 |
| 2.1.2. N,N'-[(pyridine-2,6-diyl)bis]<br>(méthylène)bis(glycine) (glymp)                                                                         | p. 20 |
| 2.1.3. N,N'-[(pyridine-2,6-diyl)]bis<br>(méthylène)bis[R-alanine] ((R,R)alamp)                                                                  | p. 22 |
| 2.1.4. N,N'-[(pyridine-2,6-diyl)]bis<br>(méthylène)bis[R-valine] ((R,R)valmp)                                                                   | p. 25 |
| 2.1.5. N,N'-[(pyridine-2,6-diyl)]bis<br>(méthylène)bis[R-proline] ((R,R)promp)                                                                  | p. 28 |
| 2.1.6. N,N'-[(pyridine-2,6-diyl)]bis<br>(méthylène)bis[S-proline] ((S,S)promp)                                                                  | p. 30 |
| 2.2. Synthèse des complexes de cobalt(III)                                                                                                      | p. 32 |
| 2.2.1. $\text{Na}_3[\text{Co}(\text{CO}_3)_3] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$                                                                        | p. 33 |
| 2.2.2. $[\text{Co}(\text{py})_4(\text{Cl})_2]\text{Cl}$                                                                                         | p. 33 |
| 2.2.3. $[\text{Co}(\text{glymp})\text{H}_2\text{O}]\text{ClO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$<br>$[\text{Co}(\text{glymp})\text{py}]\text{ClO}_4$ | p. 33 |

|                                                                                                              |       |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| 2.2.4. $\Lambda$ -[Co((S,S)alamp)py]ClO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O                                       | p. 37 |
| 2.2.5. $\Lambda$ -[Co((S,S)alamp)H <sub>2</sub> O]ClO <sub>4</sub>                                           | p. 40 |
| 2.2.6. $\Lambda$ -[Co((S,S)promp)py]ClO <sub>4</sub>                                                         | p. 41 |
| 2.2.7. $\Lambda$ -[Co((R,R)promp)H <sub>2</sub> O]ClO <sub>4</sub>                                           | p. 43 |
| 2.2.8. [(NH <sub>3</sub> ) <sub>5</sub> CoNH <sub>2</sub> Co(NH <sub>3</sub> ) <sub>5</sub> ]Br <sub>5</sub> | p. 47 |
| 2.2.9. [Co(NH <sub>3</sub> ) <sub>6</sub> ]Cl <sub>3</sub>                                                   | p. 47 |
| 2.3. Discussion                                                                                              | p. 47 |

### Chapitre 3    Structure de $\Lambda$ -[Co((S,S)promp)H<sub>2</sub>O]ClO<sub>4</sub>

|                                                                                                   |       |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| 3.1. Détermination de la structure de $\Lambda$ -[Co((S,S)promp)H <sub>2</sub> O]ClO <sub>4</sub> | p. 50 |
| 3.2. Discussion                                                                                   | p. 54 |

### Chapitre 4    Equilibres de formation et propriétés rédox des complexes labiles de Fer<sup>2+</sup> et de cobalt<sup>2+</sup>

|                                                            |       |
|------------------------------------------------------------|-------|
| 4.1. Constantes de dissociation des ligands                | p. 56 |
| 4.1.1. Constantes de stabilité des complexes de fer(II)    | p. 57 |
| 4.1.2. Constantes de stabilité des complexes de cobalt(II) | p. 61 |
| 4.1.3. Discussion                                          | p. 64 |
| 4.2. Potentiels rédox des complexes                        | p. 65 |
| 4.2.1. Complexes de fer(II)                                | p. 65 |
| 4.2.2. Complexes de cobalt(II) et de cobalt(III)           | p. 66 |
| 4.2.3. Discussion                                          | p. 71 |

### Chapitre 5    Cinétique de transfert d'électron

|                                                                    |       |
|--------------------------------------------------------------------|-------|
| 5.1. Généralités concernant le transfert d'électron stéréosélectif | p. 73 |
|--------------------------------------------------------------------|-------|

|                                                                                                                                                                                                                                      |       |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| 5.2. Cinétiques de la réduction de PCu(II) par<br>les complexes de fer(II)                                                                                                                                                           | p. 79 |
| 5.2.1. Solutions                                                                                                                                                                                                                     | p. 79 |
| 5.2.2. Mesures                                                                                                                                                                                                                       | p. 81 |
| 5.2.3. Système [Fe(alamp)]                                                                                                                                                                                                           | p. 82 |
| 5.2.4. Système [Fe(valmp)]                                                                                                                                                                                                           | p. 83 |
| 5.2.5. Système [Fe(promp)]                                                                                                                                                                                                           | p. 84 |
| 5.2.6. Discussion                                                                                                                                                                                                                    | p. 86 |
| 5.3. Influence des complexes inhibiteurs<br>[Co(NH <sub>3</sub> ) <sub>6</sub> ]Cl <sub>3</sub> et [Co <sub>2</sub> (NH <sub>3</sub> ) <sub>10</sub> NH <sub>2</sub> ]Br <sub>5</sub> sur la<br>réduction de PCu(II) par [Fe(alamp)] | p. 88 |
| 5.3.1. Préparations des solutions                                                                                                                                                                                                    | p. 89 |
| 5.3.2. Discussion                                                                                                                                                                                                                    | p. 90 |
| 5.4. Détermination des paramètres d'activation<br>pour la réduction de PCu(II) par les complexes<br>de fer(II)                                                                                                                       | p. 92 |
| 5.4.1. Système [Fe(glymp)]                                                                                                                                                                                                           | p. 93 |
| 5.4.2. Système [Fe(alamp)]                                                                                                                                                                                                           | p. 94 |
| 5.4.3. Système [Fe(valmp)]                                                                                                                                                                                                           | p. 95 |
| 5.4.4. Système [Fe(promp)]                                                                                                                                                                                                           | p. 95 |
| 5.4.5. Discussion                                                                                                                                                                                                                    | p. 98 |

Chapitre 6 Réactions de transfert d'électron entre la  
plastocyanine et des complexes optiquement  
actifs de cobalt(II)

|                                                                                                                             |        |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| 6.1.1. Influence de la concentration de [Co(alamp)]<br>sur la cinétique de réduction de PCu(II) dans<br>un tampon phosphate | p. 103 |
| 6.1.2. Détermination des paramètres d'activation<br>pour le système [Co(alamp)]-tampon<br>phosphate                         | p. 105 |
| 6.1.3. Discussion                                                                                                           | p. 106 |

|                                                                                                                 |        |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| 6.2.1. Influence de la concentration d'imidazole<br>sur la cinétique de réduction de PCu(II)<br>par [Co(alamp)] | p. 110 |
| 6.2.2. Détermination des paramètres d'activation<br>pour le système [Co(alamp)]-tampon<br>imidazole             | p. 113 |
| 6.2.3. Discussion                                                                                               | p. 114 |
| <u>Chapitre 7</u> Discussion générale                                                                           | p. 117 |
| <u>Chapitre 8</u> Bibliographie                                                                                 | p. 121 |
| <u>Annexe 1</u>                                                                                                 | p. 127 |
| <u>Annexe 2</u>                                                                                                 | p. 141 |
| <u>Annexe 3</u>                                                                                                 | p. 149 |
| <u>Annexe 4</u>                                                                                                 | p. 153 |

## Abréviations

|                       |                                                                                                                                                                                  |
|-----------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| PCu(II)               | Plastocyanine dans l'état oxydé                                                                                                                                                  |
| PCu(I)                | Plastocyanine dans l'état réduit                                                                                                                                                 |
| PS I ou II            | Photosystème I ou II                                                                                                                                                             |
| TE                    | Transfert d'électrons                                                                                                                                                            |
| phen                  | Phenantroline                                                                                                                                                                    |
| bipy                  | Bipyridine                                                                                                                                                                       |
| edta <sup>4-</sup>    | Ethylènediamine tétracétate                                                                                                                                                      |
| dipic <sup>2-</sup>   | Dipicolinate                                                                                                                                                                     |
| glymp                 | N,N'-[(pyridine-2,6-diyl)bis(méthylène)]bis<br>[glycine]                                                                                                                         |
| alamp                 | N,N'-[(pyridine-2,6-diyl)bis(méthylène)]bis<br>[alanine]                                                                                                                         |
| valmp                 | N,N'-[(pyridine-2,6-diyl)bis(méthylène)]bis<br>[valine]                                                                                                                          |
| promp                 | N,N'-[(pyridine-2,6-diyl)bis(méthylène)]bis<br>[proline]                                                                                                                         |
| py                    | Pyridine                                                                                                                                                                         |
| im                    | Imidazole                                                                                                                                                                        |
| edampda <sup>2-</sup> | N,N'-bis(2-pyridyl méthyl)éthylènediamine<br>N,N'-diacétate                                                                                                                      |
| bamap                 | Bis(N-acétato,N-méthyl-amino-2-éthyl)-2,6-<br>pyridine                                                                                                                           |
| k <sub>et</sub>       | Constante de vitesse pour le transfert<br>d'électron                                                                                                                             |
| k <sub>ex</sub>       | Constante de vitesse du deuxième ordre pour la<br>réduction de PCu(II)                                                                                                           |
| λ                     | Energie de réorganisation                                                                                                                                                        |
| k <sub>11</sub>       | Constante de vitesse d'auto-échange pour le<br>complexe inorganique                                                                                                              |
| k <sub>22</sub>       | Constante de vitesse d'auto-échange pour la<br>protéine                                                                                                                          |
| k <sub>12</sub>       | Constante de vitesse de réaction entre la<br>protéine et le complexe inorganique                                                                                                 |
| in                    | Inhibiteur: soit [Co(NH <sub>3</sub> ) <sub>6</sub> ]Cl <sub>3</sub> ou<br>[(NH <sub>3</sub> ) <sub>5</sub> CoNH <sub>2</sub> Co(NH <sub>3</sub> ) <sub>5</sub> ]Br <sub>5</sub> |

## Chapitre 1

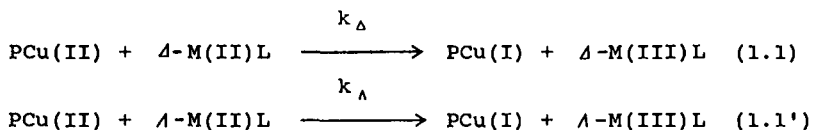
### 1. Introduction

#### 1.1. Généralités

Depuis une quarantaine d'années, les sciences naturelles évoluent en direction d'une plus grande interdisciplinarité. La chimie n'échappe pas à cette tendance et certains domaines, qui auparavant en étaient distincts, en font maintenant partie intégrante. Vice-versa, l'apport de la chimie dans d'autres sciences devient actuellement très important. Cette tendance est particulièrement évidente dans les relations qui existent entre la chimie et la biologie, au point que de nouvelles disciplines hybrides, comme la chimie bioorganique ou bioinorganique, sont apparues. Leur but est de comprendre, au niveau moléculaire, des processus aussi complexes que la photosynthèse, la fixation d'azote, etc... L'approche utilisée est basée sur l'emploi de modèles. Le système naturel est généralement très compliqué et il n'est souvent pas possible d'en étudier une propriété isolée. Des systèmes artificiels de structure très simple sont synthétisés afin de reproduire une propriété particulière du système naturel, dont l'étude spécifique sera alors plus facile.

## 1.2. But du travail

Une des caractéristiques les plus importantes des systèmes enzymatiques est leur stéréospécificité [1]. Dans ce travail, nous étudions la question de savoir si une telle stéréosélectivité peut également être observée dans des réactions de transfert d'électron entre une metalloprotéine et des réactifs synthétiques qui servent de modèle pour le partenaire physiologique. Le choix de la metalloprotéine s'est porté sur la plastocyanine de l'épinard (PCu(II) ou PCu(I) dans l'état oxydé ou réduit respectivement). La forme oxydée PCu(II) peut être réduite par des complexes de fer(II) ou de cobalt(II) optiquement actifs. La stéréosélectivité de cette réaction se traduit par une différence dans les vitesses de réduction entre les deux énantiomères selon les équations (1.1) et (1.1')



L'évaluation de cette stéréosélectivité est donnée par le rapport  $k_{\Delta} / k_{\Lambda}$  qui, à son tour, est une expression de la différence de l'énergie libre d'activation  $\Delta G^{\#}$ .

Le but de ce travail est de déterminer dans quelle mesure l'étude de la stéréosélectivité permet de mieux cerner le mécanisme d'une réaction faisant intervenir des protéines.

### 1.3. Description du système

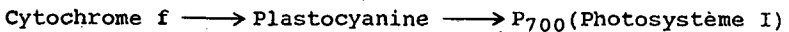
#### 1.3.1. Plastocyanine de l'épinard

Parmi les réactions biologiquement importantes, le transfert d'électron (TE) tient une très grande place (photosynthèse, phosphorylation oxydative...). Généralement, ces réactions se composent d'une suite de TE, l'électron étant transféré d'une protéine (ou d'un complexe protéinique) fixé dans une membrane à une autre protéine fixe (ou un complexe protéinique) par l'intermédiaire d'une série de transporteurs d'électrons. Dans la photosynthèse, la plastocyanine joue ce rôle de transporteur.

Le TE et les propriétés des protéines de cuivre bleu ont fait déjà l'objet de plusieurs revues [2], [3].

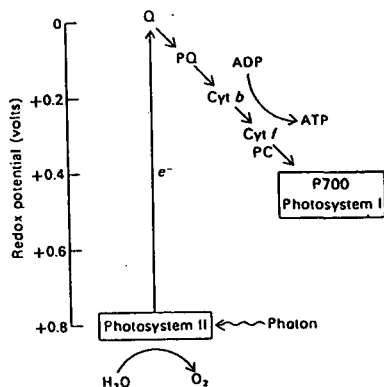
##### 1.3.1.1. Rôle biologique

La première isolation et description de la plastocyanine de l'algue bleue *Chlorella ellipsoidea* a été effectuée par Katoh en 1960 [4]. Dès lors, cette protéine a été isolée à partir d'un très grand nombre de plantes supérieures et de certaines algues. Elle se trouve à l'intérieur des chloroplastes, comme l'a montré Hauska [5]. A l'aide de réactions d'inhibition, il a été proposé que la plastocyanine est réduite par le photosystème II (PS II) et oxydée par le photosystème I (PS I) [6]. De plus, comme le potentiel d'oxydo-réduction de la plastocyanine est de + 370 mV [7], la position de la protéine dans la chaîne de transport d'électron doit être très proche du PS I (Fig. 1). Actuellement, il est établi que la plastocyanine est le donneur d'électrons spécifique pour le PS I, et que son réducteur physiologique est le cytochrome f. L'ordre de réaction est le suivant:



L'image que l'on peut se faire actuellement du centre de réaction du PS I est la suivante (Fig. 2): le centre de réaction du PS I contient six polypeptides différents (numérotés de I à VI dans la Fig. 2). Le pigment P<sub>700</sub> est situé du côté interne de la membrane chloroplastique et se compose de deux sous-unités (I). Chaque sous-unité I contient un accepteur primaire d'électron et environ 20 molécules de chlorophylle a, organisées dans une forme semi-cristalline. Des études de réactivité entre une plastocyanine modifiée et les partenaires rédox cytochrome f et PS I [8] ont montré que les interactions électrostatiques jouent un rôle prépondérant dans le maintien d'une conformation optimale pour un TE efficace entre la plastocyanine et P<sub>700</sub>.

La sous-unité III est placée du côté interne de la membrane thylakoidale. Lorsque ce polypeptide est absent du complexe protéinique, le TE n'est plus observé entre la plastocyanine et P<sub>700</sub> [9]. Wynn & Malkin [10] proposent que cette sous unité de PM 19000 ait une importance pour la reconnaissance du site de réaction pour la plastocyanine.



**Fig. 1** Schéma du transport électronique dans la chaîne photosynthétique.

Q: Accepteur primaire inconnu du PS I

PQ: Plastoquinone

Cyt b: Cytochrome b

Cyt f: Cytochrome f

PC: Plastocyanine

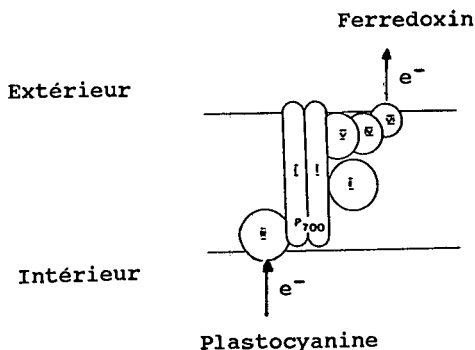
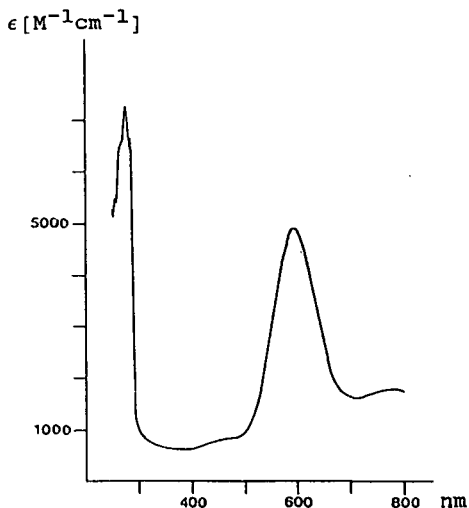


Fig. 2 Modèle pour la structure et la fonction du centre de réaction du PS I.

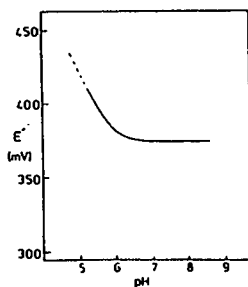
#### 1.3.1.2. Aspects structuraux

Les plastocyanines font partie des protéines de cuivre de type 1 [2]. Elles sont caractérisées par une intense coloration bleue dans l'état oxydé (Fig. 3), ainsi que par un spectre ESR très particulier. La bande d'absorption à 597 nm est due principalement à un transfert de charge du ligand sur le métal ( $S(\pi)-Cu(d_{x^2-y^2})$ ) [11] et le très petit dédoublement hyperfin observé dans le spectre ESR est une conséquence de l'asymétrie de l'environnement du cuivre. Une propriété supplémentaire des plastocyanines est leur potentiel rédox, dont la valeur est particulièrement élevée, comparé à celle de beaucoup de complexes de cuivre(II)/cuivre(I).



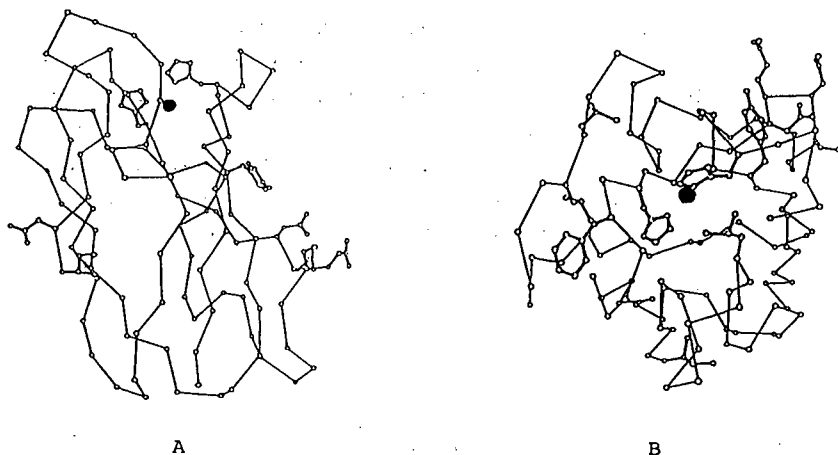
**Fig. 3** Spectre UV - VIS de la plastocyanine de l'épinard dans l'état oxydé.

Le pH a une certaine influence sur les propriétés rédox de la protéine. Dans le domaine allant de pH = 6.5 - 9.5, le potentiel est constant et vaut +370 mV. En dessous de pH = 6.5, le potentiel augmente lorsque le pH diminue pour atteindre une valeur de +420 mV à pH = 5 [12] (Fig. 4). Ces propriétés particulières de la protéine n'ont pas encore pu être totalement reproduites par des petits complexes "modèles".

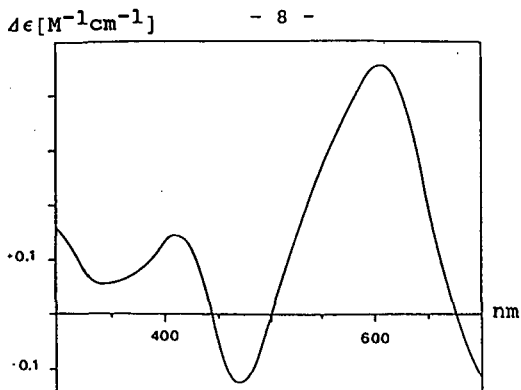


**Fig. 4** Variation du potentiel rédox de la plastocyanine isolée de *Petroselinum* sp. en fonction du pH.

La structure de la plastocyanine isolée de *Populus nigra*, déterminée par diffraction des rayons X, a été résolue par Freeman pour l'état oxydé à pH = 7 et pH = 4 [13], pour l'état réduit (PCu(I)) [14] ainsi que pour l'apoprotéine [15]. La conformation en solution de la plastocyanine de l'algue bleue *Scenedesmus obliquus* a été étudiée par RMN [16] et indique que le squelette peptidique est similaire à celui de la plastocyanine de peuplier dans l'état cristallin. La structure tertiaire de la forme oxydée peut se décrire comme étant un cylindre aplati (sandwich  $\beta$ ), avec l'ion métallique placé près de l'une des extrémités de la molécule ((Fig. 5a) et 5b)). La faible quantité d'hélice  $\alpha$  observée dans la protéine est en accord avec le spectre CD (Fig. 6) [17].

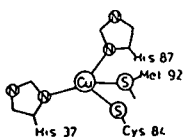


**Fig. 5** Structure tridimensionnelle de la plastocyanine du peuplier dans l'état oxydé.  
A: Structure ternaire montrant la forme d'un cylindre aplati.  
B: Vue représentant le site hydrophobe près du centre métallique.



**Fig. 6** Spectre CD de la plastocyanine de l'épinard dans l'état oxydé.

Les quatre atomes coordonnant le cuivre sont N(His 37) 2.04 Å; N(His 87) 2.10 Å; S(Cys 84) 2.13 Å; S(Met 92) 2.90 Å. La géométrie autour de ce centre de coordination est fortement déformée (Fig. 7). Elle dérive d'une symétrie  $C_{3v}$  par élongation de la liaison Cu-S(Met 92). D'autre part, le centre métallique est inaccessible pour le solvant et se trouve dans un environnement hydrophobe. Seul un côté de l'imidazole de His 87 se trouve à la surface de la protéine et est en contact avec le solvant. Ce site est l'un des deux endroits où le transfert d'électron peut avoir lieu. L'électron est alors transféré sur une distance d'environ 6 Å (Fig. 5b).



**Fig. 7** Structure du centre métallique de la plastocyanine de peuplier dans l'état oxydé.

Une autre particularité structurale de la plastocyanine de *Populus nigra* est la distribution des charges sur sa surface. A pH = 7, la charge globale est de -8 pour la forme oxydée. Cinq restes chargés négativement se trouvent concentrés dans une région du squelette polypeptidique, aux positions 42 à 44, 59 et 61. Cette région est conservée dans pratiquement toutes les plastocyanines isolées jusqu'à ce jour [18].

La chaîne polypeptidique qui chélate l'ion  $\text{Cu}^{2+}$  subit peu de changements entre le pH = 6.0 et 4.2. Le plus grand changement dans la distance Cu-ligand est observée pour Cu-N(His 87). Mais cette élongation de 0.07 Å n'est pas considérée comme significative [13]. La variation de la vitesse de TE en fonction du pH ne provient pas de changements structuraux dans la plastocyanine, en tout cas lorsque la forme oxydée de la protéine est impliquée [13]. Afin de pouvoir expliquer les propriétés spectroscopiques et rédox de la protéine, il a été démontré que la présence de ligands mous dans la sphère de coordination du cuivre ainsi qu'une structure déformée étaient obligatoires [18].

La structure de la plastocyanine de peuplier dans la forme réduite ( $\text{PCu(I)}$ ) a été déterminée pour plusieurs pH (entre 3.8 et 7.8) [14]. Les structures dans l'état réduit ou oxydé ne diffèrent que très légèrement. Les différences les plus importantes sont localisées au niveau du site de coordination. La structure polypeptidique ne change pratiquement pas, ni en fonction de l'état d'oxydation, ni en fonction du pH. Dans la forme réduite à pH = 7.8, l'atome de Cu(I) est coordonné par les atomes N(His 37) et N(His 87), S(Cys 84) et S(Met 92), comme pour  $\text{PCu(II)}$ . La géométrie tétraédrique distordue et la longue distance Cu-S(Met 92) sont conservées. Le changement d'état d'oxydation a pour unique effet l'allongement des deux liaisons Cu-N d'environ 0.1 Å. Lorsque le pH diminue, l'atome de cuivre et les quatre restes des acides aminés coordonnant le métal se déplacent de manière concertée par rapport au reste de la molécule. A pH = 3.8, le Cu(I) est

coordoné de manière trigonale par N(His 37), S(Cys 84) et S(Met 92). La quatrième liaison Cu-N(His 87) est rompue. La structure trigonale favorise fortement l'état réduit Cu(I), rendant de ce fait cette forme inactive lors de réactions d'oxydation. La position du cycle imidazole de His 87 est consistante avec la protonation de l'azote N<sup>δ</sup>.

Aux pH intermédiaires, la structure raffinée est un compromis entre ces deux formes extrêmes. En solution, la forme rédox active (observée aux pH élevés) et la forme rédox inactive (observée aux pH bas) sont en équilibre dynamique.

La structure de l'apoprotéine [15] montre que seuls cinq restes changent de position par rapport à la structure de la forme contenant le cuivre(II). Le changement le plus intéressant a lieu pour His 87. La position de cet acide aminé est pratiquement la même que dans PCu(II). Par contre, le cycle imidazole est tourné de 180° autour de la liaison C<sup>β</sup>-C<sup>γ</sup>.

La description du cycle imidazole de His 87 comme une "porte tournante" suggère que l'incorporation du Cu(II) dans l'apoprotéine se déroule en deux étapes: il y a tout d'abord coordination réversible du cuivre sur l'azote du cycle imidazole en contact avec le solvant, suivie de la rotation de ce cycle et de la formation des trois autres liaisons coordinatives. Un mécanisme en deux étapes a été indiqué pour l'incorporation du cuivre(II) dans deux protéines de cuivre bleu similaires, la stellacyanine [19] et l'azurine [20]. La structure moléculaire et la géométrie irrégulière du site de coordination du cuivre est imposée par la chaîne polypeptidique.

#### 1.3.1.3. Aspects réactionnels

La réaction de transfert d'électron impliquant une plastocyanine et une protéine comme par exemple le cytochrome f [21], [22], le cytochrome c [23], [24], l'azurine [23], ou la flavodoxine [25] a été passablement étudiée. D'autre part, la réactivité entre de petites molécules inorganiques "modèles"

et la plastocyanine a été étudiée principalement par A.G. Sykes et H.B. Gray. Les principaux complexes qui ont été utilisés sont  $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{3+}$  [26], [27], [28],  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$  [26], [27],  $[\text{Co}(\text{bipy})_3]^{3+}$  [29],  $[\text{Fe}(\text{ēdta})]^{2-}$  [30], [31],  $[\text{Fe}(\text{dipic})_2]^{2-}$  [32], ferrocène et quelques dérivés [33], [34].

Les études cinétiques menées par Sykes [26], [27], ont montré que l'oxydation de PCu(I) est très fortement dépendante du pH dans le domaine pH = 4 à 7. Ceci est apparemment dû à la protonation de l'imidazole de His 87 qui destabilise l'état Cu(II). Un certain nombre d'études ont montré que les oxydants positivement chargés présentent une courbe cinétique limitante [26], [27] et que des complexes redox inactifs comme  $[\text{Co}(\text{NH}_3)_3]^{3+}$ ,  $[\text{Co}_2\text{NH}_2(\text{NH}_3)_{10}]^{5+}$  inhibent fortement la réaction [35], [36]. Ces résultats indiquent la formation d'un complexe précurseur entre la protéine et les réactifs chargés positivement. Le site principal de fixation pour les complexes cationiques a été identifié par des études RMN [37], [38] et par marquage d'affinité avec le chrome(II) [39], [40], comme étant proche des résidus 42 à 45 ("acidic patch"). Cette région chargée négativement (cf. Fig. 5a) se trouve à environ 19 Å du centre métallique de la protéine et est l'un des deux endroits pouvant être utilisé lors du TE [22], [41]. Le transfert de l'électron sur une si longue distance se ferait par délocalisation sur les orbitales moléculaires conjuguées de restes aromatiques. Ce "canal aromatique", composé des acides aminés Phe 14, Phe 41, Phe 82, Tyr 83, ainsi que Val 93, Val 94, relie le "négatif patch" au cuivre. Un haut degré de conservation est observé pour ces résidus dans les plastocyanines isolées à partir de différentes plantes et algues. Le "négatif patch" a été proposé comme site de reconnaissance pour le centre actif du photosystème I (P700) [42]. Le ferricytochrome c se fixe également sur ce site [43]. Des études avec des plastocyanines modifiées sur les résidus 42 - 45 [8], [44], présentent une diminution de la vitesse de réaction et conduisent aux mêmes conclusions.

Pourtant, des études récentes de réactivité de la plastocyanine modifiée [45] montrent que ce site et les restes adjacents 59 à 61 sont impliqués dans la fixation du cytochrome f et qu'ainsi, le centre de réaction du photosystème I se fixerait vers His 87. Ce site hydrophobe (cf. Fig. 5b) apparaît être le plus favorable pour le TE, ce dernier étant environ dix fois plus rapide que lorsque l'acidic patch est impliqué dans la réaction [46]. Des études RMN ont également montré que l'anion hexacyanochromate(III) se fixe sur ce site hydrophobe [37] et il est probable que l'ion analogue hexacyanoferrate(II) réagisse également à cet endroit.

### 1.3.2. Complexes utilisés

Les ligands utilisés dans ce travail dérivent tous de la bis[3-carboxy-2-azapropyl]-2,6-pyridine. Leurs structures sont indiquées dans la Fig. 8.

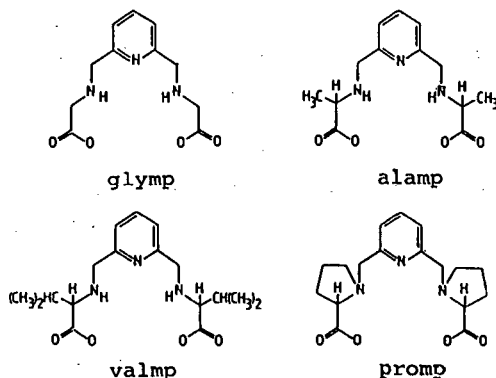
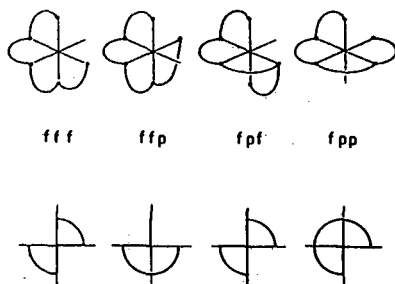


Fig. 8 Structure des ligands utilisés dans ce travail.

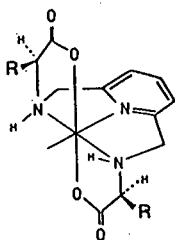
Généralement, la coordination d'un ligand linéaire pentadenté autour d'un centre métallique peut conduire à plusieurs structures diastéréoisomériques. Afin d'établir les relations qui existent entre la réactivité et la structure d'un réactif, il faut que ce dernier ait une structure unique et connue. Ainsi, pour un centre métallique labile, le ligand choisi doit être diastéréosélectif. Pour réaliser cette spécificité, nous avons choisi un ligand qui possède une symétrie  $C_2$  et qui impose un mode de coordination fpf (facial -périphérique - facial) pour l'arrangement des trois paires de cycles condensés (Fig. 9).

Pour assurer un arrangement périphérique des deux cycles intérieurs, la pyridine substituée en position 2 et 6 a été choisie. Pousaz [47], [48] et Jeanguenat [49] ont montré, sur la base de spectres CD et RMN pour (S,S)-valmp et (S,S)-promp et par la détermination de la structure par mesure de diffraction de rayons X dans le cas du bamap, que ces trois ligands se coordonnent avec le cobalt(III) de la manière attendue. La structure fpf a été également prouvée par diffraction des rayons X pour le complexe  $\Lambda$ -[Co((S,S)promp)H<sub>2</sub>O]ClO<sub>4</sub> (cf. chapitre 3).



**Fig. 9** Schéma indiquant les quatre possibilités de coordination d'un ligand pentadenté autour d'un centre métallique.

Cette disatéréosélectivité est très importante, car elle permet d'attribuer une configuration absolue uniquement à partir de la chiralité du ligand. La structure déterminée par Pousaz [50] et celle décrite au chapitre 3 montrent en plus que le substituant porté par le carbone  $\alpha$  de l'unité aminocarboxylate est toujours placé en position *exo*, c.a.d. orienté en direction de la sixième position de coordination. La fixation de la configuration de base ainsi que celle de la position des substituants permet d'admettre que l'utilisation d'un ligand optiquement actif conduit à un seul diastéréoisomère des complexes métalliques, et ceci aussi bien pour les complexes inertes du cobalt(III) que pour les complexes labiles comme ceux du fer(II) et du cobalt(II). Ce diastéréoisomère possèdera la configuration  $\Delta$  pour les ligands de structure (R,R) et la configuration  $\Lambda$  pour les ligands de structure (S,S) (Fig. 10).



$\Delta$ -exo-(S,S)<sub>C</sub>(R,R)<sub>N</sub>

**Fig. 10** Structure de la forme *exo*, indiquant que les restes R sont toujours dirigés du côté de la sixième position libre.

En admettant que le transfert d'électron entre la plastocyanine et les complexes utilisés dans ce travail ait lieu par l'intermédiaire de la sixième position libre, des interactions stériques pourront avoir lieu entre la surface de la protéine et les substituants des ligands. Par le choix de la

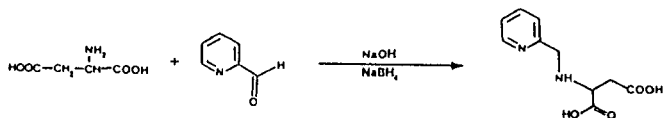
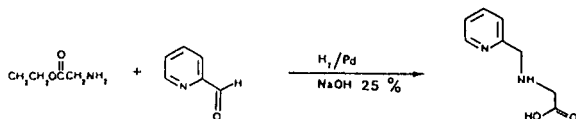
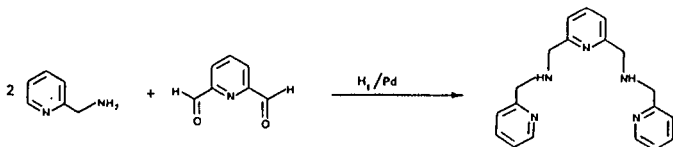
taille de ces restes, il devrait être possible de faire varier la distance sur laquelle l'électron est échangé: plus les restes sont volumineux, plus la séparation entre les deux centres métalliques augmenterait et plus la réaction se ralentirait.

## Chapitre 2

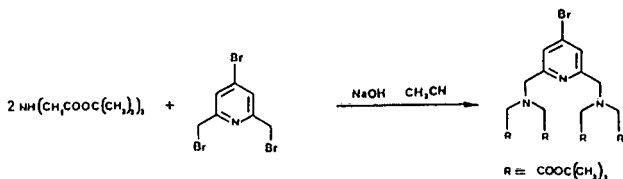
### 2.1. Principes de synthèse des ligands

Pour la synthèse des ligands pentadentés dérivés de la 2,6-bis(aminométhyl)pyridine, la littérature indique deux voies générales de synthèse:

a) Réduction par  $H_2/Pd$  ou par  $NaBH_4$  de la base de Schiff formée par condensation du bis carboxaldéhyde-2,6-pyridine et de l'amine ou l'ester de l'acide aminé choisi, par analogie aux exemples décrits dans la littérature [51], [52], [53].



b) Condensation entre le bis(bromométhyl)-2,6-pyridine ou un de ses dérivés et un dérivé de l'acide aminé choisi [54]



Le ligand ne portant pas de substituants sur la partie aminocarboxylate (glymp) n'a pas pu être obtenu par la méthode b). Il a été synthétisé par hydrogénation de la base de Schiff (méthode a)); tous les autres ligands utilisés dans ce travail, à savoir les deux énantiomères de alamp, valmp et promp.2HCl ont pu être préparés par alkylation directe des acides aminés correspondants (méthode b)). Les deux méthodes de synthèse sont représentées dans le schéma 1.

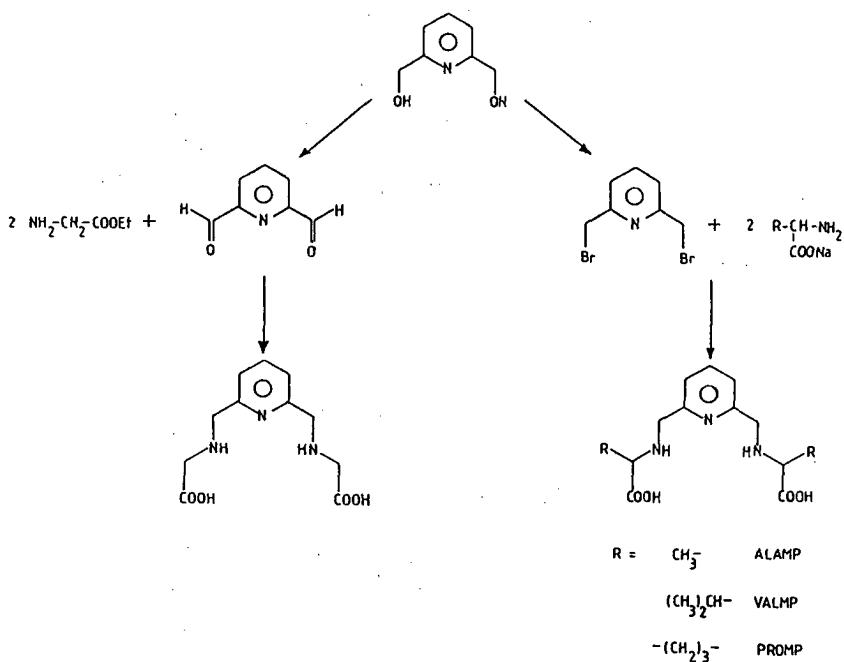


Schéma 1.

### 2.1.1. Bis(bromométhyl)-2,6-pyridine

Bis(bromométhyl)-2,6-pyridine a été synthétisé selon le mode opératoire indiqué dans [48], modifié de la manière suivante:

400 ml (3.59 moles) de HBr 48% et 50.0 g (0.359 mole) de bis(hydroxyméthyl)-2,6-pyridine sont placés dans un ballon d'un litre surmonté d'un réfrigérant. Le mélange est chauffé à reflux durant 24 heures sous agitation. Le solide cristallin obtenu après refroidissement du mélange est filtré sur verre fritté puis repris dans de l'eau et neutralisé par adjonction de NaOH jusqu'à un pH de 7. Le précipité est filtré et recristallisé dans la ligroïne. Rendement 41.25 g (43 %).

Une portion supplémentaire de produit impur (contenant environ 50 % de bromométhyl-2-hydroxyméthyl-6-pyridine) peut être isolé de la manière suivante: La solution mère (HBr) est évaporée au rotavapor puis le résidu est repris dans l'eau et neutralisé avec NaOH 2N. Le précipité est filtré et séché. Il peut être utilisé pour une nouvelle synthèse du produit dibromé.

### Analyses

F : 82 - 85°C

R<sub>f</sub> = 0.74 Mélange CH<sub>3</sub>OH:CHCl<sub>3</sub> 1:9

RMN: 200 MHz Solvant CDCl<sub>3</sub> référence interne: TMS

4.55(s, 4H, CH<sub>2</sub>Br), 7.40(d, 2H, H<sub>a</sub>), 7.74(t, 1H, H<sub>b</sub>)  
(Fig. 11)

IR: Pastille KBr. (Fig. 12)

Masse: Ionisation électronique, ions positifs

265(20%, M<sup>+</sup>), 184(100%), 105(36%), 78(28%) (Fig. 13)

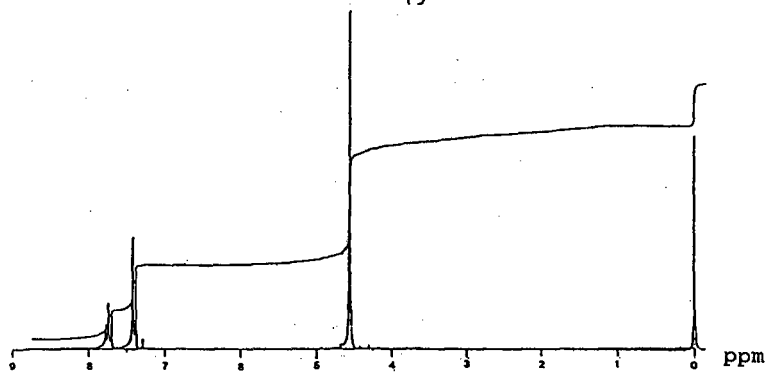


Fig. 11 Spectre RMN  $H^1$  200 MHz de bis(bromométhyl)-2,6-pyridine.

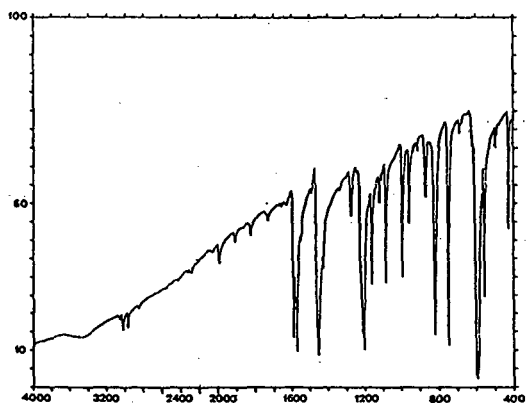


Fig. 12 Spectre IR de bis(bromométhyl)-2,6-pyridine, pastille KBr.

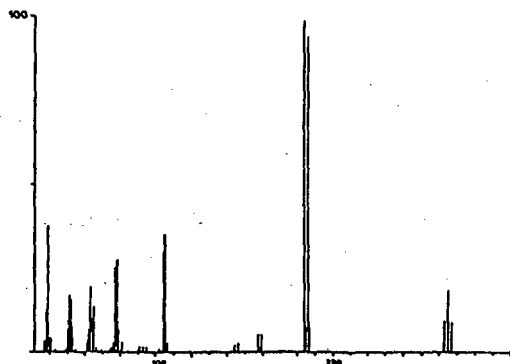


Fig. 13 Spectre de masse de bis(bromométhyl)-2,6-pyridine.

2.1.2. N,N'-[(pyridine-2,6-diyl)bis(méthylène)]bis(glycine)  
(glymp)

La synthèse du glymp a été effectuée selon la voie a) (page 15). Le mélange réactionnel se compose d'un grand nombre de produits. De ce fait, nous avons rencontré passablement de problèmes pour purifier glymp. La saponification est l'étape la plus critique de la synthèse, car, en milieu basique, le ligand polymérise facilement. Le rendement est de ce fait très faible. Malgré sa faible pureté, nous avons procédé à des mesures d'équilibre et de cinétique avec ce ligand (voir chapitres 4 et 5). Les valeurs que nous en tirons sont à considérer avec prudence.

a) Chlorhydrate du glycinate d'éthyle

La synthèse du chlorhydrate du glycinate d'éthyl et l'isolation de sa forme libre ont été effectuées selon la méthode décrite par [55].

Dans une suspension de 25.0 g (0.333 mole) de glycine dans 80 ml d'éthanol absolu, chauffé à ébullition, on fait passer un courant de HCl gazeux jusqu'à ce que la solution devienne limpide. Le mélange réactionnel est alors refroidi et le chlorhydrate du glycinate d'éthyle précipite. Après filtration, 43.6 g de l'ester sont récoltés. Rendement: 94 %  
F: 142-145°C

b) Isolement du glycinate d'éthyl

5.5 g (0.039 mole) de chlorhydrate du glycinate d'éthyl et 3 ml d'eau sont introduits dans un ballon pointu de 50 ml. 10 ml d'éther sont rajoutés à cette solution, refroidie dans un bain de glace. La phase aqueuse est neutralisée par adjonction de NaOH 7M puis extraite une dizaine de fois avec de petites portions d'éther. La phase organique, séchée sur  $MgSO_4$  est rotavaporée et le résidu est distillé. Nous

obtenons finalement 2.15 g (0.02 mole) d'ester libre, rendement 53 %. Eb: 52-53<sup>12</sup>mmHg,  $n_D^{26}$  : 1.4215

L'ester libre est tout de suite engagé dans la synthèse du glymp.

### c) Synthèse du glymp

4.9 g (0.048 mole) de glycinate d'éthyle sont dissous dans 50 ml d'éthanol contenu dans une bombe à hydrogénation. 2.6 g (0.019 mole) de bis(carboxaldéhyde)-2,6-pyridine sont rajoutés, et ce mélange est chauffé à 60°C pendant une heure. Après refroidissement, 0.3 g de Pd/C 10% sont ajoutés et le mélange réactionnel est hydrogéné sous 4 atmosphère d'hydrogène pendant 17 heures. Après filtration du catalyseur sur Milipore<sup>R</sup>, la solution est chauffée à 60°C et saponifiée par adjonction de 15 ml de NaOH 10%. Un trouble apparaît. Après deux heures de chauffage, le pH de la solution est amené à 3.5 avec H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1N. Le précipité qui se forme est filtré et le filtrat est rotavaporé à sec. Le résidu de l'évaporation est extrait au méthanol puis la solution alcoolique est chromatographiée deux fois sur LH-20, éluant méthanol:eau 50:50

Les fractions qui présentent un spot sur gel de silice dont le R<sub>f</sub> = 0.09 (butanol:eau:acide acétique 12:6:6), sont réunies, rotavaporées à sec puis reprises dans du méthanol. Le ligand est précipité par adjonction d'éther. 0.34 g de glymp sont ainsi obtenus. Rendement: 7.0 %

### Analyses

RMN: 200 MHz, Solvant D<sub>2</sub>O, Standard interne DSS

3.97(s, 4H, NH-CH<sub>2</sub>-COOH), 4.53(s, 4H, py-CH<sub>2</sub>-NH)

7.51(d, 2H, H<sub>a</sub>), 7.98(t, 1H, H<sub>b</sub>) (Fig. 14)

IR: Pastille KBr (Fig. 15)

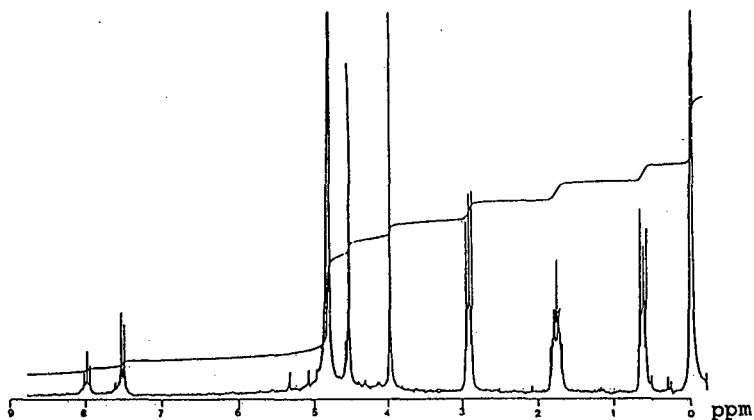


Fig. 14 Spectre RMN  $\text{H}^1$  200 MHz de glymp.

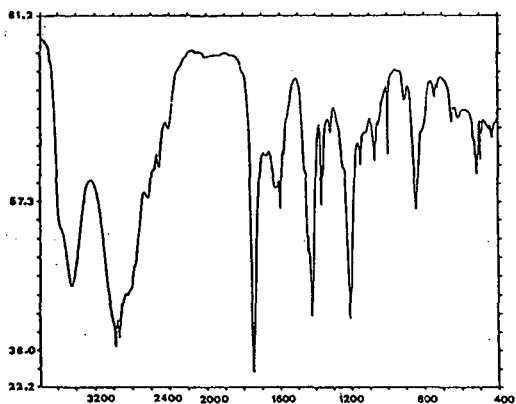


Fig. 15 Spectre IR de glymp, pastille KBr.

2.1.3.  $N,N'$ -(pyridine-2,6-diyl)bis(méthylène)bis(R-alanine)  
(R,R)-alamp

49.5 g (0.555 mole) de R-alanine sont neutralisés avec une quantité stoechiométrique de NaOH. La solution est rotavaporée à sec et séchée sur silicagel pendant douze heures.

L'alaninate de sodium sec est dissous dans 160 ml de méthanol distillé et introduit dans un tricol de deux litres, muni d'un réfrigérant, d'une ampoule à brome et d'une agitation mécanique. 40.6 g (0.15 mole) de bis(bromométhyl)-2,6-pyridine dissous dans 800 ml de méthanol distillé sont ajoutés goutte à goutte au moyen de l'ampoule à brome sur la solution d'alaninate de sodium chauffée à 50°C. Le pH est maintenu à 9 par adjonction de NaOH et la solution est chauffée à reflux pendant 20 heures. Le mélange réactionnel, refroidi dans un bain de glace et neutralisé par HCl 2N est introduit dans une colonne Dowex 50 X-8, H<sup>+</sup>. La colonne est d'abord lavée abondamment à l'eau, puis les produits fixés sont déplacés avec NaOH 0.1 M. L'excès d'alanine sort en premier, suivi par un mélange du ligand désiré et du dérivé monosubstitué. Lors des synthèses de alamp, valmp ou promp, le produit monosubstitué est toujours présent. Pour éviter au maximum la formation de ce composé, il faut travailler en milieu alcoolique et basique. Les fractions contenant (R,R)-alamp (Rf = 0.24, butanol:eau:acide acétique 12:6:6) et le produit monosubstitué (Rf = 0.32, butanol:eau:acide acétique 12:6:6) sont réunies et reprises dans un mélange eau:méthanol. Le ligand est précipité par adjonction d'acétone. Cette précipitation est répétée plusieurs fois jusqu'à l'obtention du ligand pur. Rendement: 10.5 g de (R,R)-alamp (31 %)

#### Analyses

C,H,N: Calculé pour C<sub>13</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (281.3)

C:55.51 H:6.81 N:14.94

Trouvé

C:55.07 H:6.73 N:14.69

Rotation optique:

| (nm)                     | 578   | 546   | 436   | 365   |                            |
|--------------------------|-------|-------|-------|-------|----------------------------|
| (S,S)-alamp [ $\alpha$ ] | +13.7 | +15.1 | +25.5 | +43.8 | c = 0.20, H <sub>2</sub> O |
| (R,R)-alamp [ $\alpha$ ] | -12.1 | -14.2 | -26.9 | -47.6 | c = 0.18, H <sub>2</sub> O |

RMN: 200 MHz, Solvant D<sub>2</sub>O, référence interne DSS

1.57(d, 6H, CH<sub>3</sub>-CH), 3.80(q, 2H, CH-CH<sub>3</sub>), 4.45(s, 4H, py-CH<sub>2</sub>-NH), 7.48(d, 2H, H<sub>a</sub>), 7.92(t, 1H, H<sub>b</sub>) (Fig. 16)

IR: Pastille KBr (Fig. 17)

Masse: Ionisation électronique, ions positifs

282(M<sup>+</sup>+H, 1%), 236(13%), 194(59%), 149(17%), 133(37%), 107(100%) (Fig. 18)

(S,S)-alamp est obtenu de manière analogue à la synthèse décrite ci-dessus.

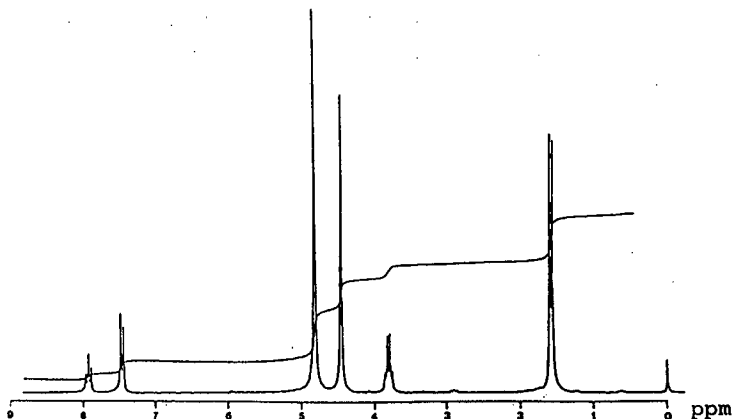


Fig. 16 Spectre RMN H<sup>1</sup> 200 MHz de (R,R)-alamp.

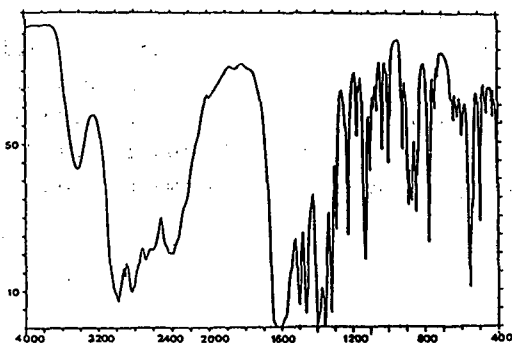


Fig. 17 Spectre IR de (R,R)-alamp, pastille KBr.

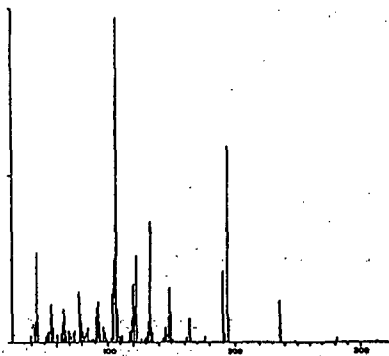


Fig. 18 Spectre de masse de (R,R)-alamp.

2.1.4. N,N'[(pyridine-2,6-diyl)bis(méthylène)]bis[R-valine]  
(R,R)-valmp

Cette synthèse est effectuée de manière analogue à celle décrite par Jeanguenat [49].

0.114 mole de R-valinate de sodium, préparé par neutralisation de 13.35 g de R-valine par NaOH (cf. 2.1.3.) sont dissous dans 30 ml de méthanol distillé. La solution est chauffée à reflux puis 6.58 g (0.025 mole) de bis(bromométhyl)-2,6-pyridine dans 100 ml de méthanol sont introduit goutte à goutte. Le pH est maintenu à 9.5 par adjonction

d'une solution méthanolique de NaOH. Après 21 heures de reflux, la R-valine qui précipite est filtrée. Le filtrat est alors chromatographié sur Dowex 50x-8, 200-400 mesh,  $H^+$  puis purifié selon la même procédure indiquée sous 2.1.3.

2.60 g de (R,R)-valmp est finalement obtenu. Rendement: 31.5%

### Analyses

C,H,N: Calculé pour  $C_{17}H_{27}N_3O_4$  (337.4)

C:60.51 H:8.07 N:12.45

Trouvé

C:60.43 H:8.08 N:12.40

R<sub>f</sub> = 0.44 Mélange butanol:H<sub>2</sub>O:CH<sub>3</sub>COOH 12:6:6

### Rotation optique:

| (nm)                   | 578   | 546   | 436    | 365    |                  |
|------------------------|-------|-------|--------|--------|------------------|
| (S,S)-valmp $[\alpha]$ | +4.67 | +5.55 | +9.08  | +15.14 | $c = 0.39, H_2O$ |
| (R,R)-valmp $[\alpha]$ | -5.92 | -6.79 | -12.37 | -19.86 | $c = 0.57, H_2O$ |

RMN: 200 MHz, Solvant D<sub>2</sub>O, référence interne DSS

1.08(t, 12H, CH<sub>3</sub>-CH), 2.32(m, 2H, CH-CH<sub>3</sub>), 3.55(d, 2H, CH-CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 4.47(s, 4H, py-CH<sub>2</sub>-NH), 7.52(d, 2H, H<sub>a</sub>)  
7.99(t, 1H, H<sub>b</sub>) (Fig. 19)

IR: Pastille KBr (Fig. 20)

Masse: Ionisation électronique, ions positifs

Le pic moléculaire à  $e/m = 337$  n'est pas détecté.

293(4.8%), 247(15%), 223(47%), 205(14%), 133(24%),  
107(100%) (Fig. 21)

Le (S,S)-valmp utilisé au cours de ce travail est celui synthétisé par Jeanguenat [49], selon une procédure identique à 2.1.4.

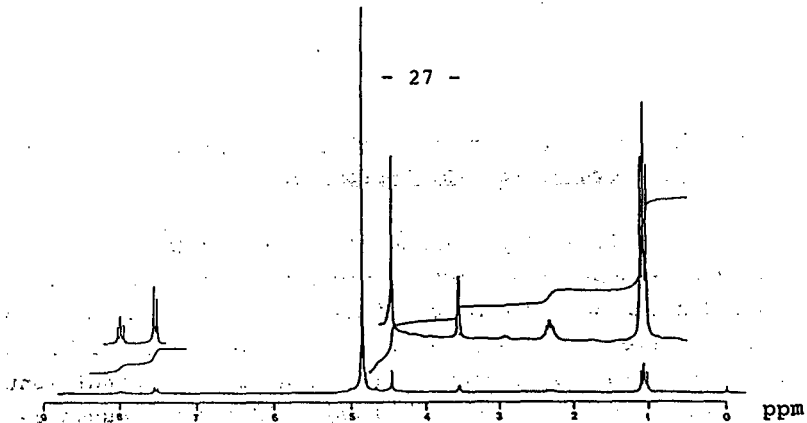


Fig. 19 Spectre RMN  $H^1$  200 MHz de (R,R)-valmp.

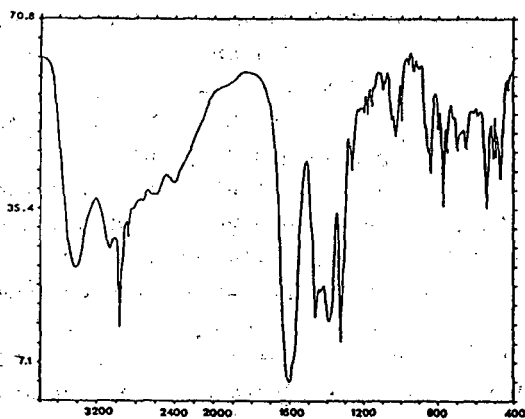


Fig. 20 Spectre IR de (R,R)-valmp, pastille KBr.

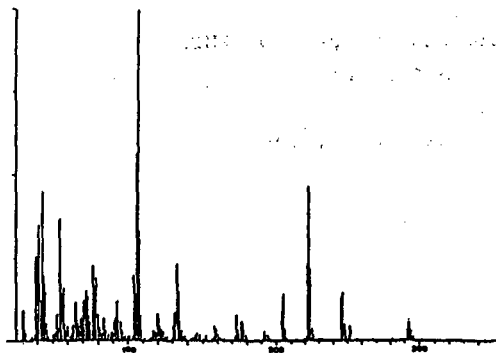


Fig. 21 Spectre de masse de (R,R)-valmp.

2.1.5. N,N'-[(pyridine-2,6-diyl)bis(méthylène)]bis(R-proline  
dichlorhydrate, (R,R)-promp.2HCl

0.218 mole de R-prolinate de sodium, préparé à partir de 25.09 g de R-proline selon le procédé habituel (cf. 2.1.3), sont dissous dans 200 ml de méthanol distillé. A cette solution chauffée à reflux, 19.61 g (0.073 mole) de bis(bromo-méthyl)-2,6-pyridine dissous dans 150 ml de méthanol sont ajoutés goutte à goutte. Le pH est maintenu en dessus de 9.5 par adjonction d'une solution alcoolique de NaOH. Le mélange réactionnel, chauffé 24 heures à reflux est refroidi et neutralisé avec HCl concentré. La solution est chromatographiée sur Dowex 50x8, 200-400 mesh, H<sup>+</sup>. L'élution avec de l'eau permet d'enlever une partie de la R-proline n'ayant pas réagi, puis par élution avec NaOH 0.2 M, le ligand est déplacé. Les fractions présentant un spot à R<sub>f</sub> = 0.19 (butanol:H<sub>2</sub>O:CH<sub>3</sub>COOH 12:6:6) sont réunies et concentrées. Le résidu huileux est dissous dans un minimum d'eau puis le milieu est acidifié par adjonction de deux équivalents de HCl concentré, calculés sur la base d'un rendement théorique en ligand de 100 %.

Un mélange méthanol:acétone est ensuite ajouté et un trouble apparaît. Le chlorhydrate du ligand cristallise en fines aiguilles. Après deux cristallisations, nous obtenons 9.54 g de (R,R)-promp.2HCl. Rendement: 56%

Analyses

C,H,N: Calculé pour C<sub>17</sub>H<sub>23</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>.2HCl (406.3)

C:50.24 H:6.20 N:10.34

Trouvé

C:50.0 H:6.16 N:10.26

Rotation optique:

| (nm)                        | 578   | 546   | 436   | 365   |                  |
|-----------------------------|-------|-------|-------|-------|------------------|
| (S,S)-promp.2HCl $[\alpha]$ | -20.4 | -22.9 | -38.2 | -55.3 | $c = 0.27, H_2O$ |
| (R,R)-promp.2HCl $[\alpha]$ | +23.7 | +26.6 | +43.0 | +60.8 | $c = 0.35, H_2O$ |

RMN: 200 MHz, Solvant D<sub>2</sub>O, référence interne DSS

2.25(m, 6H, CH<sub>2</sub> cycle pyrrolidine), 2.60(m, 2H, CH<sub>2</sub> cycle pyrrolidine), 3.42(m, 2H, H<sub>1ax</sub>), 3.87(m, 2H, H<sub>1eq</sub>), 4.47(q, 2H, H<sub>4</sub>), 4.69(dd, 4H, py-CH<sub>2</sub>-N) 7.60(d, 2H, H<sub>a</sub>), 8.00(t, 1H, H<sub>b</sub>) (Fig. 22)

IR: Pastille KBr (Fig. 23)

Masse: Ionisation chimique (NH<sub>3</sub>), ions positifs

334(M<sup>+</sup>+H, 91%), 290(32%), 237(89%), 221(100%), 175(12%), 116(25%) (Fig. 24)

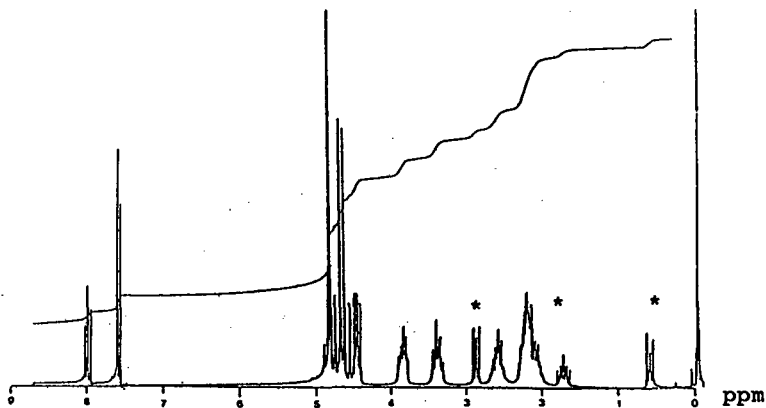


Fig. 22 Spectre RMN H<sup>1</sup> 200 MHz de (R,R)-promp.2HCl. Les pics \* sont dû à la référence (DSS).

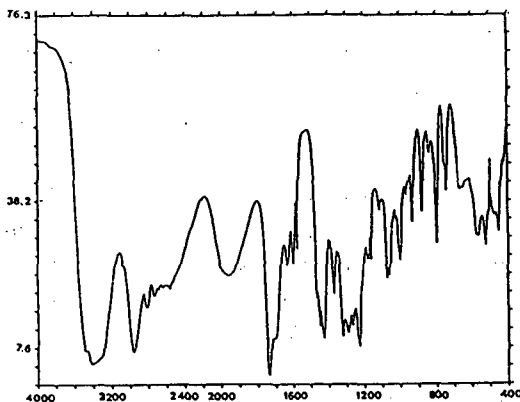


Fig. 23 Spectre IR de (R,R)-promp.2HCl, pastille KBr.

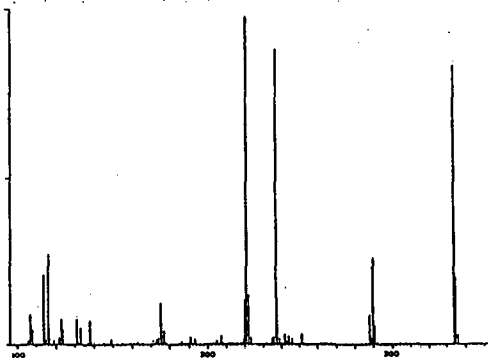


Fig. 24 Spectre de masse de (R,R)-promp.2HCl, ionisation chimique ( $\text{NH}_3$ ).

2.1.6.  $N,N'$ [(pyridine-2,6-diyl)bis(méthylène)]bis[S-proline] dichlorhydrate, (S,S)-promp.2HCl

La synthèse est effectuée comme pour 2.1.5, mais avec les masses suivantes: 22.6 g (0.085 mole) de bis(bromométhyl)-2,6-pyridine et 46.75 g (0.34 mole) de S-proline.

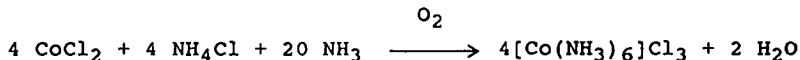
Après le passage sur Dowex 50X8, 200-400 mesh,  $H^+$ , les fractions contenant le ligand sont chromatographiées deux fois sur Sephadex LH-20, éluant  $H_2O$ :Méthanol 50:50. La précipitation est ensuite effectuée comme décrit dans 2.1.5.

## 2.2 Synthèse des complexes de cobalt(III)

Les méthodes usuelles de synthèse de complexes de cobalt(III) peuvent être classées en deux catégories:

### 1. Oxydation d'un complexe labile de cobalt(II) [56]

#### a) par l'oxygène de l'air



#### b) par le peroxyde d'hydrogène

2. La substitution d'un ou plusieurs ligands dans la sphère de coordination d'un complexe de cobalt(III) par d'autres ligands [56]. Plusieurs sels de cobalt(III) conviennent pour ce type de synthèse:  $\text{Na}_3[\text{Co}(\text{CO}_3)_3] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ,  $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]\text{Cl}_3$  et  $[\text{Co}(\text{py})_4(\text{Cl})_2]\text{Cl}$  sont les plus couramment utilisés pour former des complexes avec les ligands de type aminocarboxylates.

Les caractéristiques de la substitution des carbonates dans le cas du tris-carbonatocobaltate(III) de sodium sont les suivantes [56]:

- Les deux premiers carbonates éliminés sont remplacés par d'autres ligands possédant un champ des ligands plus élevé. Le dernier  $\text{CO}_3^{2-}$  est difficile à substituer et généralement, l'emploi du charbon actif est nécessaire pour y parvenir.

- Un excès de ligand est nécessaire pour avoir une substitution complète

- Des synthèses dans des solvants non aqueux sont impossibles, vu la faible solubilité de ce sel.

Pour remédier à ces problèmes, un autre complexe peut être utilisé, le  $[\text{Co}(\text{py})_4(\text{Cl})_2]\text{Cl}$  [57]. Les synthèses effectuées avec ce complexe ont permis de créer des chromophores du type  $\text{CoN}_6$ ,  $\text{CoN}_4\text{S}_2$ ,  $\text{CoN}_2\text{O}_3\text{Cl}$ . Ces réactions nécessitent

une quantité stoechiométrique de ligand et peuvent se faire dans des solvants organiques tels que méthanol, pyridine, DMSO. Le mécanisme de formation de complexes à partir de l'ion tétrakispyridine dichloro cobalt(III) ne fait vraisemblablement pas intervenir la substitution directe des pyridines ou chlorures. C'est plutôt l'oxydation du complexe labile formé entre le cobalt(II) (présent à l'état de traces) et le ligand par le  $[\text{Co}(\text{py})_4(\text{Cl})_2]^+$  qui a lieu. En effet, des traces de cobalt(II) accélèrent la réaction pour le système Co(II)-edta [57], [58].

Nous avons utilisé ces deux sels comme matériel de départ pour la synthèse de nos complexes. Le trans-dichlorotetrakis pyridine cobalt(III) conduit aux pyridino complexes et le tris-carbonatocobaltate de sodium permet d'obtenir les aqua complexes.

#### 2.2.1. $\text{Na}_3[\text{Co}(\text{CO}_3)_3] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$

Cette synthèse a été effectuée selon le procédé décrit dans [59].

#### 2.2.2. $[\text{Co}(\text{py})_4(\text{Cl})_2]\text{Cl}$

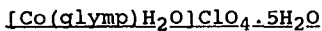
Cette synthèse est décrite dans [57].

#### 2.2.3. $[\text{Co}(\text{glymp})\text{H}_2\text{O}]\text{ClO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

2.92 g (6.06 mmole) de  $[\text{Co}(\text{py})_4(\text{Cl})_2]\text{Cl}$  sont ajoutés à une solution de 4.16 g (16.4 mmole) de glymp brut dans 100 ml d'eau. Le mélange réactionnel est chauffé pendant 3 heures à 60°C. La solution devient rouge-brun. Après refroidissement, elle est chromatographiée sur une colonne Sephadex SP-C 25 l = 115 cm,  $\phi = 3$  cm) chargée en  $\text{Na}^+$ . Une partie importante du mélange réactionnel ne se fixe pas et est éluée à l'eau. La fraction retenue est déplacée avec NaCl 0.1%. L'éluat est concentré jusqu'à un volume d'environ 50 ml, introduit dans

une colonne Sephadex G-10 (l = 165 cm,  $\phi$  = 4.5 cm) et élué à l'eau, afin de séparer le complexe du NaCl. Le complexe cationique est à nouveau chromatographié sur Sephadex SP-C 25. En éluant avec un mélange NaClO<sub>4</sub> 0.2% / CH<sub>3</sub>COOH 0.05%, deux bandes apparaissent: une première orange, correspondant au pyridino complexe, et la suivante rouge, correspondant à l'acqua complexe. Ces deux fractions sont récoltées séparément puis chromatographiées sur Sephadex G-10. Après concentration de l'éluat, les deux complexes cristallisent facilement. Nous obtenons finalement 0.2 g de [Co(glymp)H<sub>2</sub>O]ClO<sub>4</sub> et 0.43 g de [Co(glymp)py]ClO<sub>4</sub>.

### Analyses



C,H,N: Calculé pour [Co(C<sub>11</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>)]ClO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O (517.7)

C:25.5 H:4.87 N:8.11

Trouvé

C:25.48 H:2.85 N:7.70

La différence élevée entre le pourcentage calculé et observé pour l'hydrogène et l'azote provient d'une impureté présente dans l'échantillon. Le spectre RMN montre de petits pics dans le domaine aromatique aux mêmes fréquences de résonance que pour le pyridino complexe, laissant supposer que c'est ce produit qui contamine notre échantillon.

RMN: 200 MHz, Solvant DMSO, référence interne DMSO

3.33(dd, 2H, H<sub>ax</sub>), 3.88(m, 2H, H<sub>eq</sub>), 4.53(d, 2H, H<sub>2</sub>),  
5.00(dd, 2H, H<sub>1</sub>), 6.57\*(s, 2H, OH<sub>2</sub>), 7.58(d, 2H, H<sub>A</sub>),  
8.10(t, 1H, H<sub>B</sub>), 8.32\*(t, 1H, NH), 8.50\*(t, 1H, NH)

\*: Proton échangeable dans D<sub>2</sub>O (Fig. 25)

IR: Pastille KBr (Fig. 26)

UV - VIS: Voir Tableau 1 (Fig. 27)

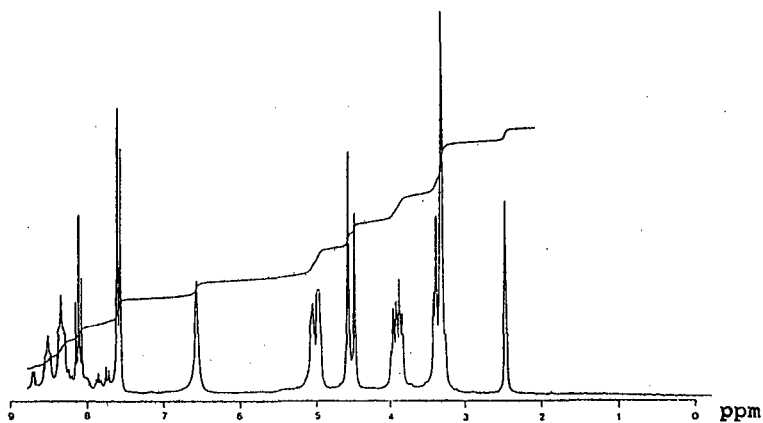


Fig. 25 Spectre RMN  $H^1$  200 MHz de  $[Co(glymp)H_2O]ClO_4$ .

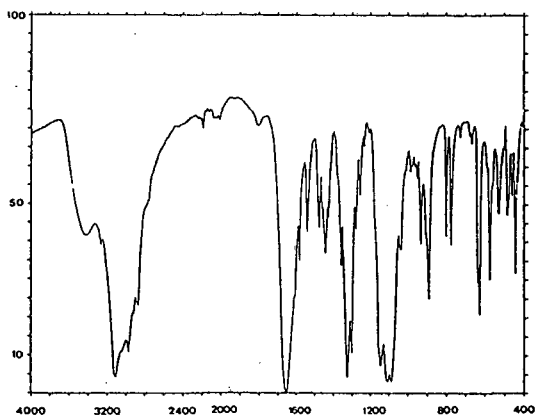


Fig. 26 Spectre IR de  $[Co(glymp)H_2O]ClO_4$ , pastille KBr.

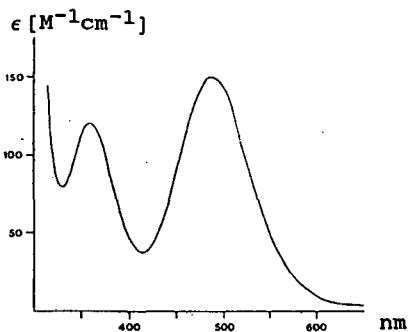


Fig. 27 Spectre UV - VIS de  $[Co(glymp)H_2O]ClO_4$ .

[Co(glymp)py]ClO<sub>4</sub>

C,H,N: Calculé pour [Co(C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>)]ClO<sub>4</sub> (488.73)

C:39.32 H:3.71 N:11.46

Trouvé

C:39.12 H:3.80 N:11.20

RMN: 200 MHz, Solvant DMSO, référence interne DMSO

3.30(m, 4H, NH-CH<sub>2</sub>-COO), 4.57(d, 2H, H<sub>2</sub>), 5.10(dd, 2H, H<sub>1</sub>), 7.75(d, 2H, H<sub>a</sub>), 7.87(t, 2H, H<sub>b</sub>), 8.01(s, 2H, NH), 8.25(t, 2H, H<sub>a</sub>'), 8.71(d, 2H, H<sub>c</sub>') (Fig. 28)

IR: Pastille KBr (Fig. 29)

UV-VIS: Voir Tableau 1 (Fig. 30)

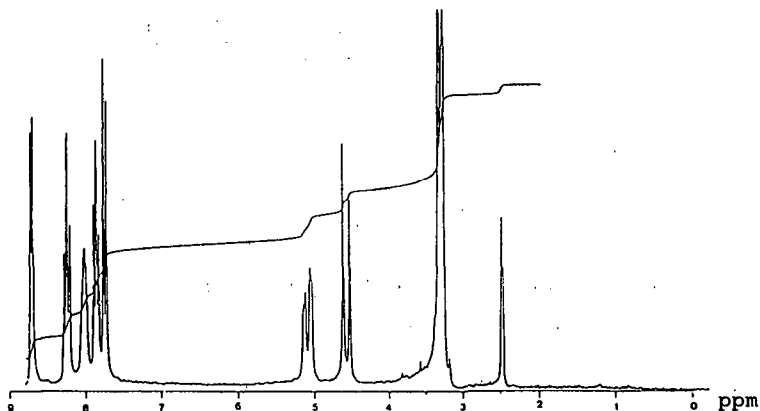


Fig. 28 Spectre RMN H<sup>1</sup> 200 MHz de [Co(glymp)py]ClO<sub>4</sub>.

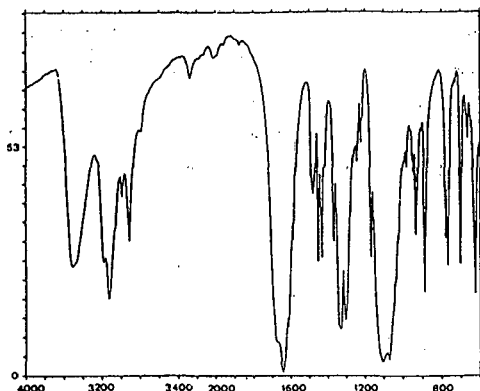


Fig. 29 Spectre IR de  $[\text{Co}(\text{glymp})\text{py}]\text{ClO}_4$ , pastille KBr.

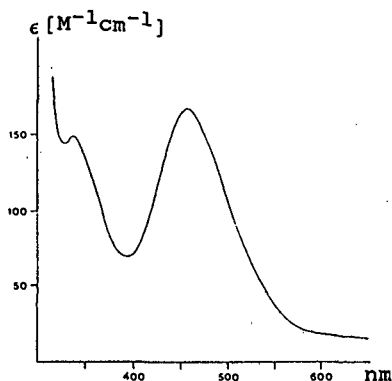


Fig. 30 Spectre UV - VIS de  $[\text{Co}(\text{glymp})\text{py}]\text{ClO}_4$ .

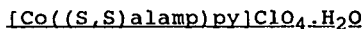
#### 2.2.4. $\Lambda$ - $[\text{Co}((S,S)\text{-alamp})\text{py}]\text{ClO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$

4.0 g (8.1 mmole) de  $[\text{Co}(\text{py})_4(\text{Cl})_2]\text{Cl}$  sont ajoutés à une solution de 2.35 g (8.4 mmole) de (S,S)-alamp dissous dans 50 ml d'eau. La solution est agitée et chauffée à 60°C pendant 24 heures. Après refroidissement et filtration, le mélange est fixé sur une colonne Sephadex SP-C 25 chargée en  $\text{Na}^+$ . Tout le complexe est retenu et l'élution avec une solution de  $\text{NaClO}_4$  0.1% donne une seule bande. Cette fraction est

concentrée puis chromatographiée sur Sephadex G-10, éluant: eau. Après évaporation d'une partie de l'eau de la fraction dessalée, le complexe cristallise.

1.93 g de  $\Delta$ -[Co((S,S)-alamp)py]ClO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O sont finalement obtenus après deux cristallisations dans l'eau. Rendement: 44%

### Analyses



C,H,N: Calculé pour [Co(C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>)]ClO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O (535)

C:40.40 H:4.53 N:10.48

Trouvé

C:40.26 H:4.35 N:10.64

RMN: 200 MHz, Solvant DMSO, référence interne TMS

0.65(d, 6H, CH<sub>3</sub>-CH), 3.42(q, 2H, CH-CH<sub>3</sub>), 4.62(d, 2H, H<sub>2</sub>)  
5.07(dd, 2H, H<sub>1</sub>), 7.52(d, 2H, NH), 7.77(d, 2H, H<sub>a</sub>),  
7.93(t, 2H, H<sub>b</sub>), 8.30(2t, 2H, H<sub>a</sub>'), 8.82(d, 2H, H<sub>c</sub>'),  
(Fig. 31)

IR: Pastille KBr (Fig. 32)

UV-VIS: Voir Tableau 1 (Fig. 33)

CD: Voir Tableau 1 (Fig. 34)

Rotation optique: Voir Tableau 1

La synthèse de  $\Delta$ -[Co((R,R)alamp)py]ClO<sub>4</sub> est effectuée de manière analogue à celle du complexe énantiomère. Les spectres RMN, IR et UV-VIS sont identiques à ceux de  $\Delta$ -[Co((S,S)alamp)py]ClO<sub>4</sub>. Voir Tableau 1

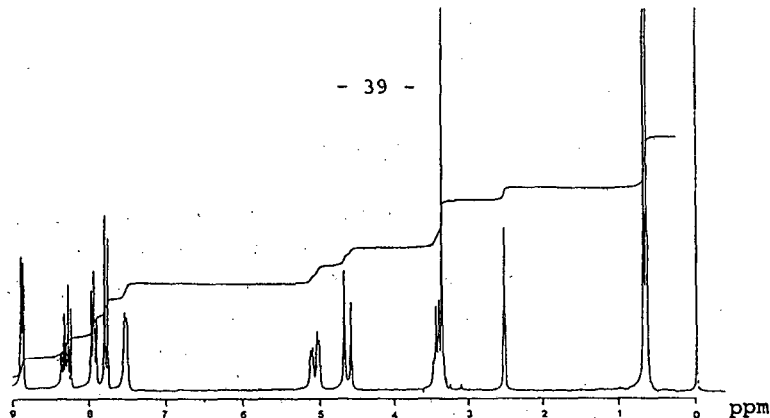


Fig. 31 Spectre RMN  $H^1$  200 MHz de  $\Lambda$ -[Co((S,S)alamp)py]ClO<sub>4</sub>.

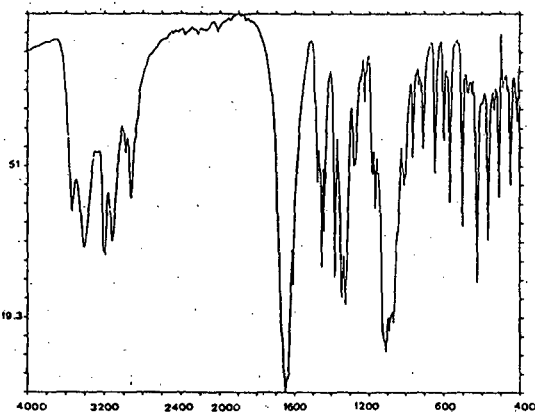


Fig. 32 Spectre IR de  $\Lambda$ -[Co((S,S)alamp)py]ClO<sub>4</sub>, pastille KBr.

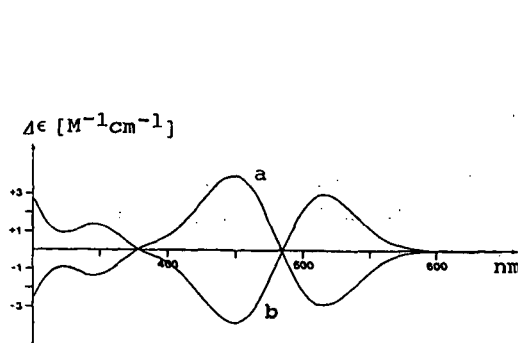


Fig. 34 Spectre CD de  
a:  $\Lambda$ -[Co((S,S)alamp)py]ClO<sub>4</sub>  
b:  $\Lambda$ -[Co((R,R)alamp)py]ClO<sub>4</sub>

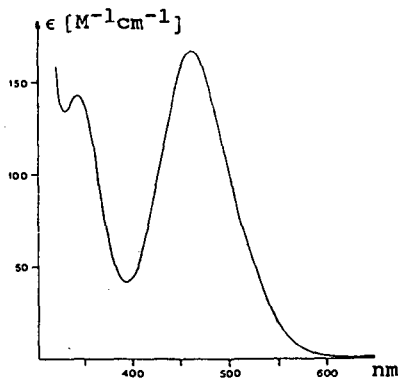


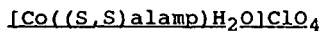
Fig. 33 Spectre UV - VIS de  
 $\Lambda$ -[Co((S,S)alamp)py]ClO<sub>4</sub>.

### 2.2.5. 1-[Co((S,S)alamp)H<sub>2</sub>O]ClO<sub>4</sub>

Des essais de déplacement du groupe pyridinique de la 6<sup>ème</sup> position de coordination en milieu acide (HCl conc., CH<sub>3</sub>COOH conc.) n'ayant pas abouti, la méthode 1.b) (p. 32) a été utilisée pour synthétiser ce complexe.

1.65 g (6.93 mmole) de CoCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O et une pointe de spatule de charbon actif sont ajoutés à une solution de 2.01 g (7.14 mmole) de ligand (S,S)alamp dans 50 ml d'eau. Le mélange réactionnel est bien agité et chauffé à 60°C au bain-marie durant 2 heures. 10 ml (0.1 mole) de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30% sont alors ajoutés goutte à goutte. La réaction se déroule pendant environ 48 heures dans ces conditions. Après filtration du charbon actif, la solution est chromatographiée sur une colonne Sephadex SP-C 25 chargée en Na<sup>+</sup>. En éluant avec de l'eau, une partie du mélange réactionnel n'est pas retenue. Cette fraction n'est pas analysée. La fraction cationique fixée est alors éluée avec NaCl 0.2%. La bande rouge est collectée puis, après chromatographie sur une colonne Sephadex G-10 afin d'éliminer l'excès de NaCl, elle est concentrée et mise au réfrigérateur. Le produit n'a pas pu être obtenu sous forme cristalline. Le spectre RMN donné dans la Fig. 35 est obtenu sur le solide issu de l'évaporation à sec de cette solution. Ce complexe a été synthétisé par Jeanguenat [49] à partir du tris-carbonatocobaltate de sodium. Dans ce cas également, le solide n'a pas pu être obtenu.

#### Analyse



RMN: 200 MHz, Solvant DMSO, référence interne TMS

1.57(d, 6H, CH<sub>3</sub>-CH), 3.32(m, 2H, CH-CH<sub>3</sub>), 4.48(d, 2H, H<sub>2</sub>)  
4.94(dd, 2H, H<sub>1</sub>), 7.64(d, 2H, H<sub>a</sub>), 7.95(d, 2H, NH),  
8.10(t, 1H, H<sub>b</sub>) (Fig. 35)

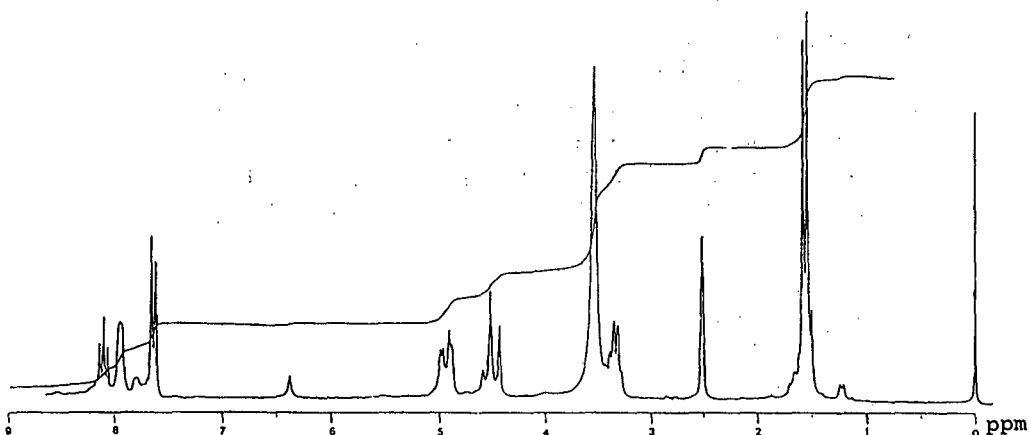


Fig. 35 Spectre RMN  $H^1$  200 MHz de  $\Lambda$ -[Co((S,S)alamp) $H_2O$ ] $ClO_4$ .

#### 2.2.6. $\Lambda$ -[Co(S,S)promp)py] $ClO_4$

Les synthèses de ce complexe et de son énantiomère ont été effectuées de manière analogue à celle décrite sous 2.2.4. A partir de 18.3 g de  $[Co(py)(Cl)_2]Cl$ , 8.5 g du complexe désiré est obtenu. Rendement: 47%

#### Analyse

##### [Co(S,S)promp)py] $ClO_4$

C,H,N: Calculé pour  $[Co(C_{22}H_{26}N_4O_4)]ClO_4$  (569)

C:46.45 H:4.16 N:9.85

Trouvé

C:46.27 H:4.52 N:9.99

RMN: 200 MHz, Solvant D<sub>2</sub>O, référence interne TMS

0.40(m, 2H, pyrrolidine), 1.85(m, 2H, pyrrolidine),  
2.40(m, 2H, pyrrolidine), 2.98(m, 2H, pyrrolidine),  
3.28(m, 2H, pyrrolidine), 3.90(q, 2H, NH-CH-COO),  
4.64(d, 2H, H<sub>2</sub>), 5.15(d, 2H, H<sub>1</sub>), 7.92(d, 2H, H<sub>a</sub>),  
8.00(t, 2H, H<sub>b</sub>), 8.38(t, 2H, H<sub>a</sub>), 8.82(d, 2H, H<sub>c</sub>)  
(Fig. 36)

IR: Pastille KBr (Fig. 37)

UV-VIS: Voir Tableau 1 (Fig. 38)

CD: Voir Tableau 1 (Fig. 39)

Rotation spécifique: Voir Tableau 1

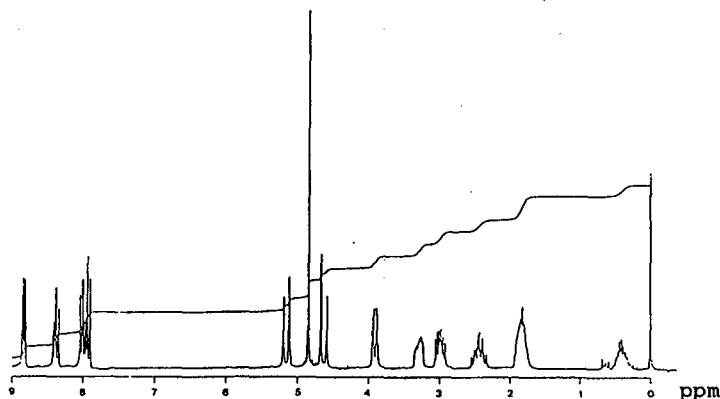


Fig. 36 Spectre RMN H<sup>1</sup> 200 MHz de 1-[Co((S,S)promp)py]ClO<sub>4</sub>.

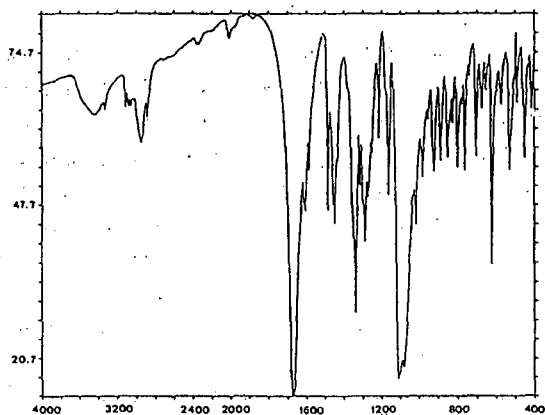


Fig. 37 Spectre IR de  $\Delta$ -[Co((S,S)promp)py]ClO<sub>4</sub>, pastille KBr.

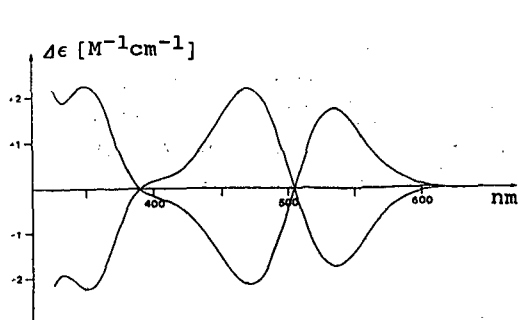


Fig. 39 Spectre CD de

a:  $\Delta$ -[Co((S,S)promp)py]ClO<sub>4</sub>.  
b:  $\Delta$ -[Co((R,R)promp)py]ClO<sub>4</sub>.

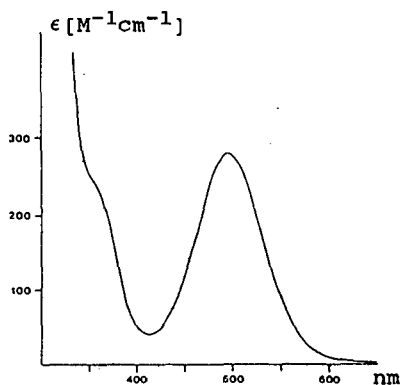


Fig. 38 Spectre UV - VIS de  $\Delta$ -[Co((S,S)promp)py]ClO<sub>4</sub>.

#### 2.2.7. $\Delta$ -[Co((R,R)promp)H<sub>2</sub>O]ClO<sub>4</sub>

4.11 g (1.35 mmole) de Na<sub>3</sub>[Co(CO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>] sont ajoutés à une solution de 4.48 g (1.1 mmole) de (R,R)-promp.2HCl. La réaction est catalysée par 0.1 g de charbon actif. Le mélange est chauffé à 50°C et le pH est amené à 6 puis maintenu à ce pH par adjonction d'acide acétique glacial. Après 23 heures

de réaction, le pH est abaissé à 3.5 avec HCl 1M. La solution est laissée environ cinq heures à 50°C puis le pH est remonté à 5.5 par adjonction de NaOH 2M. Après refroidissement, le mélange réactionnel est filtré puis chromatographié sur Sephadex G-10. La bande rouge récoltée lors de l'élution à l'eau, est introduite sur une colonne Sephadex SP-C 25, chargée en  $\text{Na}^+$ . Pratiquement tout le complexe reste fixé. Son déplacement est effectué par élution avec une solution de  $\text{NaClO}_4$  0.5%. En concentrant l'éluat, de petits cristaux se forment. Après deux cristallisations dans l'eau, 1.45 g du complexe désiré sont obtenus. Rendement: 21 %.

$[\text{Co}((S,S)\text{promp})\text{H}_2\text{O}]\text{ClO}_4$  est synthétisé de manière analogue.

### Analyse

RMN: 200 MHz, Solvant  $\text{D}_2\text{O}$ , référence interne TMS

2.07(m, 4H, pyrrolidine), 2.29(m, 4H, pyrrolidine), 2.62(m, 2H, pyrrolidine), 3.24(m, 2H, pyrrolidine), 4.01(dd, 4H,  $\text{C}^*\text{H}$ ), 4.72(système AB, 2H,  $\text{H}_2$ ), 5.10(système AB, 2H,  $\text{H}_1$ ), 7.77(d, 2H,  $\text{H}_a$ ), 8.22(t, 1H,  $\text{H}_b$ ). (Fig. 40)

IR: Pastille KBr (Fig. 41)

UV-VIS: Voir Tableau 1 (Fig. 42)

CD: Voir Tableau 1 (Fig. 43)

Rotation spécifique: Voir Tableau 1

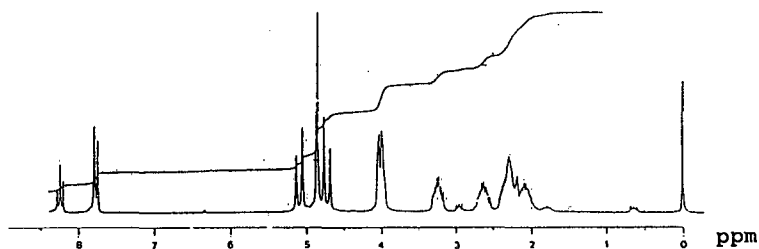


Fig. 40 Spectre RMN  $H^1$  200 MHz de  $\Delta$ -[Co((R,R)promp) $H_2O$ ] $ClO_4$ .

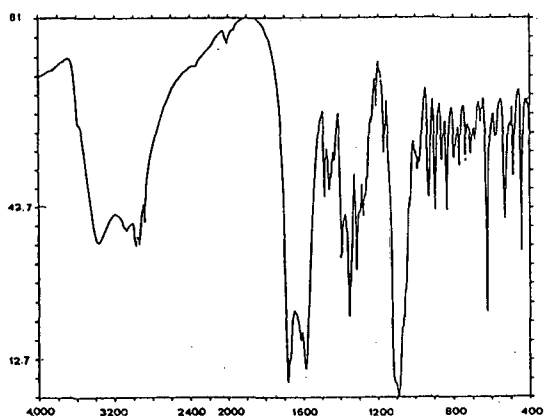


Fig. 41 Spectre IR de  $\Delta$ -[Co((R,R)promp) $H_2O$ ] $ClO_4$ , pastille KBr.

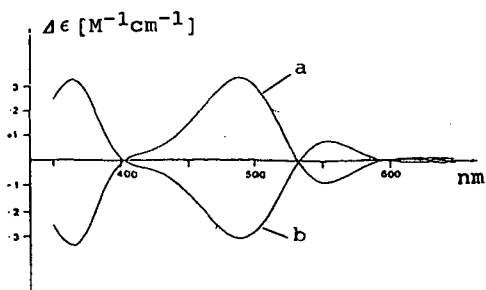


Fig. 43 Spectre CD de

a:  $\Delta$ -[Co((S,S)promp) $H_2O$ ] $ClO_4$ .

b:  $\Delta$ -[Co((R,R)promp) $H_2O$ ] $ClO_4$ .

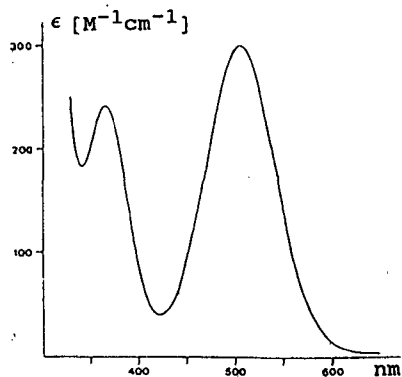


Fig. 42 Spectre UV - VIS de  $\Delta$ -[Co((R,R)promp) $H_2O$ ] $ClO_4$ .

Tableau 1 Propriétés spectroscopiques des différents complexes synthétisés

|                                                  | UV-VIS                             |                                    | CO                                       |                                          | (a)                                      |        |        |         |         |
|--------------------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------------|------------------------------------------|------------------------------------------|--------|--------|---------|---------|
|                                                  | $\lambda_{\max}(\epsilon)$<br>[nm] | $\lambda_{\max}(\epsilon)$<br>[nm] | $\lambda_{\max}(\Delta\epsilon)$<br>[nm] | $\lambda_{\max}(\Delta\epsilon)$<br>[nm] | $\lambda_{\max}(\Delta\epsilon)$<br>[nm] | 578 nm | 546 nm | 436 nm  | 365 nm  |
| [Co(GLYMP)H <sub>2</sub> O]ClO <sub>4</sub>      | 487(149)                           | 358(120)                           | --                                       | --                                       | --                                       | --     | --     | --      | --      |
| [Co(GLYMP)py]ClO <sub>4</sub>                    | 456(167)                           | 336(146)                           | --                                       | --                                       | --                                       | --     | --     | --      | --      |
| [Co((S,S)ALAMP)H <sub>2</sub> O]ClO <sub>4</sub> | 492(---)                           | 362(---)                           | 535(-----)                               | 462(-----)                               | 365(-----)                               | --     | --     | --      | --      |
| [Co((S,S)ALAMP)py]ClO <sub>4</sub>               | 480(170)                           | 341(146)                           | 513(-3.09)                               | 446(+4.07)                               | 343(-1.49)                               | -584.7 | -815.8 | -908.0  | -1961.0 |
| [Co((R,R)ALAMP)py]ClO <sub>4</sub>               | 460(167)                           | 341(143)                           | 514(+3.10)                               | 445(-4.13)                               | 345(+1.47)                               | +580.6 | +811.3 | +979.5  | +1950.1 |
| [Co((S,S)VALMP)py]PF <sub>6</sub>                | 466(154)                           | 340(141)                           | 518(-1.08)                               | 451(+1.84)                               | 332(-1.48)                               | -461.5 | -539.5 | -1036.6 | --      |
| [Co((S,S)PROMP)H <sub>2</sub> O]ClO <sub>4</sub> | 504(297)                           | 364(238)                           | 555(-0.46)                               | 490(+1.68)                               | 366(-1.69)                               | -194.2 | +246.1 | -1277.4 | -1595.5 |
| [Co((R,R)PROMP)H <sub>2</sub> O]ClO <sub>4</sub> | 505(280)                           | 365(227)                           | 553(+0.41)                               | 489(-1.59)                               | 365(+1.63)                               | +144.7 | -267.5 | +1162.5 | +1480.5 |
| -[Co((S,S)PROMP)py]ClO <sub>4</sub>              | 490(279)                           | Epaulement                         | 534(-1.72)                               | 471(+2.17)                               | 352(-2.20)                               | -424.1 | +42.9  | -975.3  | -1576.3 |
| [Co((R,R)PROMP)py]ClO <sub>4</sub>               | 490(274)                           | Epaulement                         | 535(+1.61)                               | 472(-2.08)                               | 353(+2.15)                               | +438.7 | -19.4  | +963.4  | +1533.3 |

2.2.8.  $[(\text{NH}_3)_5\text{CoNH}_2\text{Co}(\text{NH}_3)_5]\text{Br}_5$

Ce produit est synthétisé en quatre étapes. Toutes ces synthèses sont décrites dans [60].

2.2.9.  $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]\text{Cl}_3$

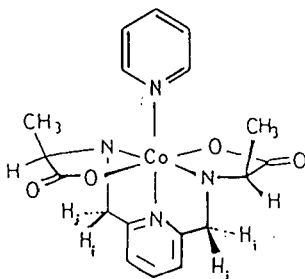
Ce produit est synthétisé selon la méthode classique de J.Bjerrum [61].

2.3. Discussion

Le spectre RMN  $^1\text{H}$  200 MHz de  $\text{promp} \cdot 2\text{HCl}$  diffère légèrement de celui des autres ligands synthétisés dans ce travail. Le pic à  $\delta = 4.69$  ppm, correspondant au  $\text{CH}_2$  en ortho de l'amine de la pyridine, présente un couplage de type AB,  $J = 13.5$  Hz. Ces deux protons ne sont donc pas équivalents. La construction de modèles permet de voir que la rotation autour de la liaison  $\text{C}_{\text{pyr}}-\text{CH}_2$  est empêchée à cause d'interactions stériques au niveau des protons du cycle aromatique et du cycle pyrrolidine. Ce couplage AB indique que ce ligand est relativement plus rigide que glymp, alamp ou valmp, pour lesquels un seul signal est observé.

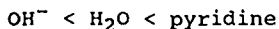
Les complexes de cobalt(III) obtenus avec glymp, alamp et promp conservent la symétrie  $\text{C}_2$  des ligands (cf. chapitre 1 et chapitre 3). Cet élément de symétrie simplifie l'interprétation des spectres. Les protons symétriquement équivalents ne montrent qu'un seul signal. La coordination du ligand autour du cobalt rend les deux protons du  $\text{CH}_2$  métylénique non équivalents. Le signal dû au proton cis par rapport au proton de l'amine ( $\text{H}_j$  dans la Fig. 44) sort aux champs faibles et se trouve sous la forme d'un doublet de doublet car il est couplé avec  $\text{H}_N$   $J = 5$  Hz et avec  $\text{H}_i$   $J_{\text{gem}} = 16.7$  Hz. La constante de couplage pour un  $\text{CH}_2$  en ortho de l'amine d'un cycle pyridinique coordonné sur le cobalt(III), comme dans le

cas de  $[\text{Co}(\text{edampda})]\text{ClO}_4$ , est de 15.4 Hz [62].  $\text{H}_i$  ne montre qu'un doublet, car le couplage avec le proton  $\text{H}_\text{N}$  trans est très faible. Dans le cas du complexe de cobalt(III) avec le ligand promp, ce couplage  $\text{H}_\text{N}\text{H}_j$  n'existe pas car l'azote est trisubstitué. Seul le couplage de type AB est observable.



**Fig. 44** Numérotation des deux protons méthyléniques non équivalents dans les spectres RMN.

Les spectres UV-VIS sont caractéristiques des complexes de cobalt (III)  $d^6$  low spin. Ils présentent tous deux bandes correspondant aux transitions  $^1\text{A}_{1g} \rightarrow ^1\text{T}_{1g}$  et  $^1\text{A}_{1g} \rightarrow ^1\text{T}_{2g}$ . La coordination de la pyridine à la place de l'eau, transformant le chromophore  $\text{CoN}_3\text{O}_3$  en  $\text{CoN}_4\text{O}_2$ , provoque un déplacement hypsochrome. Ce déplacement du maximum vers des longueurs d'onde plus courtes pour le complexe contenant la pyridine est compatible avec la série spectrochimique:



La différenciation entre les pyridino et les aqua complexes correspondants n'est pas évidente sur la seule base des spectres IR. La pyridine coordonnée sur un centre métallique présente des bandes très peu déplacées par rapport à la forme libre [63]. La bande aux environs de  $767 \text{ cm}^{-1}$  est caractéristique d'une pyridine coordonnée. Elle est présente

pour les aqua et les pyridino complexes et doit correspondre à un mode de vibration de la pyridine du ligand.

Les spectres CD laissent supposer que les ligands possédant le squelette de base bis(3-carboxy-2-azapropyl)-2,6-pyridine présentent une stéréospécificité complète. En effet, tous les ligands dont la chiralité au niveau du carbone asymétrique est S, présentent un effet Cotton positif vers 475 nm, alors que pour les ligands R, le signe est inversé pour cette longueur d'onde. Il s'agira donc de pouvoir faire le lien entre les spectres CD et la configuration absolue des complexes. Sur la base de modèles, le ligand (S,S)-promp ne peut former que l'isomère  $\Lambda$  - exo lorsqu'il est pentacoordonné. Cette hypothèse est confirmée par la détermination de la structure aux rayons X du complexe  $[\text{Co}((\text{S,S})\text{promp})\text{H}_2\text{O}]\text{ClO}_4$ , décrite dans le chapitre 3.

### Chapitre 3

#### Structure de $1-[Co((S,S)promp)H_2O]ClO_4$

Afin de discuter la stéréosélectivité observée dans ce travail (voir chapitres 5, 6, 7), il est important d'avoir des informations concernant la structure moléculaire des espèces réactives, ainsi que de leur configuration absolue. Un problème apparaît lorsque le centre de coordination du complexe réagissant est le fer(II) ou le cobalt(II). En effet, ces ions métalliques forment des complexes labiles avec les ligands utilisés. Ces derniers étant chiraux, plusieurs espèces optiquement actives sont imaginables. Afin de réduire le nombre de diastéréoisomères théoriquement possibles à un seul, avec une chiralité bien définie, les ligands à utiliser doivent se coordonner sur le métal d'une manière complètement stéréospécifique. Pousaz & all. [50] ont montré que pour bamap, un ligand linéaire pentacoordinateur dérivé de la bis(3-carboxy-2-azapropyl)-2,6-pyridine, une seule configuration pour le complexe inerte de cobalt(III) est isolable.

Une des hypothèses de base que nous faisons est que cette stéréospécificité dans la coordination est également valable pour les métaux labiles, tel le fer(II) ou le cobalt(II).

#### 3.1. Détermination de la structure de $[Co((S,S)promp)H_2O]ClO_4$

Un cristal du complexe étudié, dont les dimensions sont de 0.46 x 0.23 x 0.19 mm, a été obtenu par cristallisation dans l'eau. Les photographies préliminaires de Weissenberg et de précession indiquent que le cristal est monoclinique, groupe spatial  $P_{21}$ . Les paramètres de la maille élémentaire sont les suivants:

$$\begin{aligned} a &= 11.983(1) \text{ \AA} & b &= 7.232(1) \text{ \AA} & c &= 12.013(1) \text{ \AA} \\ \alpha &= \gamma = 90^\circ & \beta &= 106.204(4)^\circ \\ V &= 999.7 \text{ \AA}^3 \\ Z &= 2 & D_{\text{mes}} &= 1.262 \text{ g.cm}^{-3} & F(000) &= 524 \end{aligned}$$

Les réflexions, dont les indices sont compris dans les limites  $h:-15$  à  $+15$   $k:0$  à  $+9$   $l:0$  à  $+15$ ,  $\theta_{\text{max}} = 27.5^\circ$ , sont mesurées au moyen d'un diffractomètre à quatre cercles Stoe-Siemens AED-2 (radiation  $\text{MoK}_\alpha$   $\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$ ) en utilisant la méthode  $\omega/\theta$  scan. Il n'y a pas eu de variation significative de l'intensité, mesurée toutes les heures, pour quatre réflexions prises comme standard. 2626 réflexions sont mesurées. Des 2495 réflexions uniques, 2351 ont été considérées comme indépendantes,  $F_0 > 5\sigma(F_0)$ . Les paramètres de la maille élémentaire ont été obtenus à partir de 31 réflexions, ainsi que leurs paires de Friedel correspondantes, déterminées dans le domaine  $18^\circ < 2\theta < 29^\circ$ . Aucune correction sur l'absorption du rayonnement n'est effectuée,  $\mu = 9.8 \text{ cm}^{-1}$ . La structure a été résolue par la méthode de Patterson et de Fourier. Le programme SHELX-76 [64] est utilisé pour tous les calculs. Les atomes d'hydrogène non localisés lors de la synthèse des différences sont introduits dans leurs positions idéales (C-H  $1.08 \text{ \AA}$ , H-C-H  $109.5^\circ$  [65]). Le paramètre isotropique thermique total à la fin de cette procédure est de  $0.0863 \text{ \AA}^2$ .

Le raffinement anisotropique de 2340 réflexions (11 réflexions souffrant probablement d'extinction ont été supprimées) par la méthode des moindres carrés converge vers une valeur finale  $R = 0.035$   $R_w = 0.038$ ;  $w^{-1} = \sigma^2(F_o) + 0.00091(F_o^2)$ . Les plus grandes variations dans la carte des différences finale sont de  $\rho_{\text{max}} = 0.84 \text{ e.\AA}^{-3}$   $\rho_{\text{min}} = -0.45 \text{ e.\AA}^{-3}$ . Les facteurs de diffusion de l'atome de cobalt introduits dans le programme SHELX-76 ont été tirés de [65].

La structure ainsi que la numérotation est indiquée dans la fig. 45. Les longueurs ainsi que les angles des liaisons sont données dans le tableau 3.1.

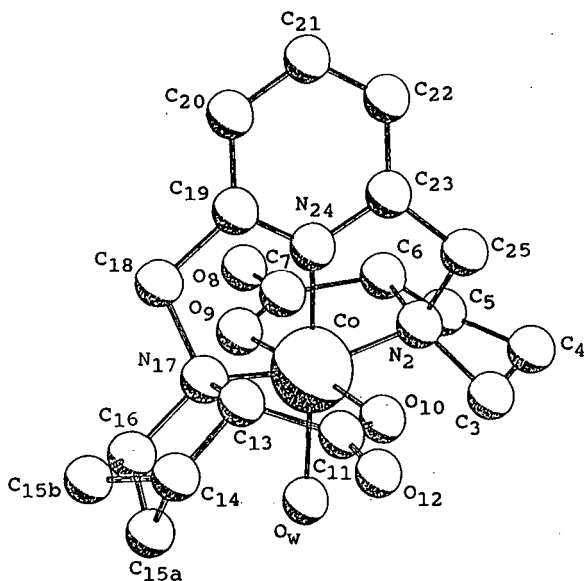


Fig. 45a) Structure et numérotation de  $1\text{-[Co((S,S)promp)H}_2\text{O]ClO}_4$ .  
Les deux positions du carbone C<sub>15</sub> correspondent à un taux d'occupation de 0.5.

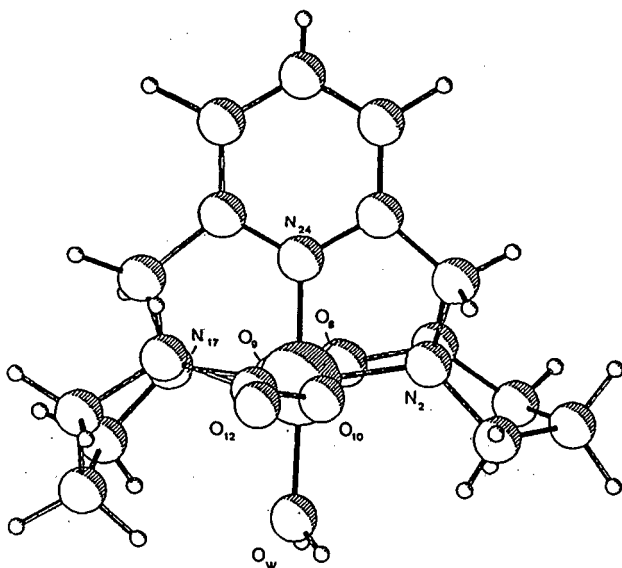


Fig. 45b) Structure de  $1\text{-[Co((S,S)promp)H}_2\text{O]ClO}_4$  montrant la  
distortion de la sphère de coordination autour du métal.

Tableau 3.1.1. Longueurs (Å) et angles (°) de quelques liaisons du complexe  $\Lambda$ -[Co((S,S)promp)H<sub>2</sub>O]ClO<sub>4</sub> + avec leurs déviations standard estimées entre parenthèses. (Valeurs de [Co((r)bamap)H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> et [Co((m)bamap)H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> à titre de comparaison. Selon ref. [64])

|                                     | $\Lambda$ -[Co((S,S)promp)H <sub>2</sub> O]ClO <sub>4</sub> | [Co((r)bamap)H <sub>2</sub> O]PF <sub>6</sub> | [Co((m)bamap)H <sub>2</sub> O]PF <sub>6</sub> |
|-------------------------------------|-------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|-----------------------------------------------|
| Co-N <sub>2</sub>                   | 1.977(3)                                                    | 2.000(5)                                      | 2.000(5)                                      |
| Co-N <sub>17</sub>                  | 1.981(3)                                                    | 2.000(5)                                      | 1.983(5)                                      |
| Co-N <sub>24</sub>                  | 1.846(3)                                                    | 1.838(7)                                      | 1.843(5)                                      |
| Co-O <sub>9</sub>                   | 1.871(3)                                                    | 1.865(4)                                      | 1.876(5)                                      |
| Co-O <sub>10</sub>                  | 1.885(3)                                                    | 1.865(4)                                      | 1.875(5)                                      |
| Co-O <sub>w</sub>                   | 1.961(3)                                                    | 1.909(8)                                      | 1.923(5)                                      |
| O <sub>10</sub> -Co-N <sub>24</sub> | 94.3(1)                                                     | 91.7(2)                                       | 97.2(2)                                       |
| O <sub>10</sub> -Co-N <sub>2</sub>  | 93.6(1)                                                     | 91.7(2)                                       | 93.3(2)                                       |
| O <sub>10</sub> -Co-N <sub>17</sub> | 87.2(1)                                                     | 88.3(2)                                       | 87.3(2)                                       |
| O <sub>10</sub> -Co-O <sub>w</sub>  | 87.6(1)                                                     | 88.3(2)                                       | 87.7(2)                                       |
| O <sub>10</sub> -Co-O <sub>9</sub>  | 175.2(1)                                                    | 176.6(2)                                      | 175.9(2)                                      |
| N <sub>2</sub> -Co-N <sub>24</sub>  | 82.2(1)                                                     | 83.2(2)                                       | 83.5(2)                                       |
| N <sub>2</sub> -Co-O <sub>w</sub>   | 99.1(1)                                                     | 96.8(2)                                       | 98.0(2)                                       |
| N <sub>2</sub> -Co-O <sub>9</sub>   | 87.9(1)                                                     | 88.3(2)                                       | 88.0(2)                                       |
| N <sub>2</sub> -Co-N <sub>17</sub>  | 164.8(1)                                                    | 166.4(2)                                      | 166.2(2)                                      |
| O <sub>9</sub> -Co-N <sub>24</sub>  | 90.4(1)                                                     | 91.7(2)                                       | 86.8(2)                                       |
| O <sub>9</sub> -Co-N <sub>17</sub>  | 92.5(1)                                                     | 91.7(2)                                       | 92.4(2)                                       |
| O <sub>9</sub> -Co-O <sub>w</sub>   | 87.7(1)                                                     | 88.3(2)                                       | 88.3(2)                                       |
| N <sub>17</sub> -Co-N <sub>24</sub> | 82.6(1)                                                     | 83.2(2)                                       | 82.8(2)                                       |
| N <sub>17</sub> -Co-O <sub>w</sub>  | 96.1(1)                                                     | 96.8(2)                                       | 95.8(2)                                       |
| N <sub>24</sub> -Co-O <sub>w</sub>  | 177.6(1)                                                    | 180.0                                         | 174.8(2)                                      |

### 3.2. Discussion

La géométrie de la sphère de coordination du cobalt est un octaèdre passablement distordu. En effet, l'angle  $N_2-Co-N_{24}$  vaut  $82.4^\circ$ , valeur comparable à celle de  $83.2^\circ$  pour le cation  $[Co((rac)bamap)H_2O]^+$  [50]. Cette distorsion est également indiquée par l'angle de  $16.23^\circ$  entre les deux plans  $N_2CoO_9$  et  $N_{17}CoO_{10}$ .

Les trois atomes d'azote  $N_2$ ,  $N_{24}$  et  $N_{17}$ , ainsi que l'atome d'oxygène de l'eau ( $O_w$ ) se trouvent dans un plan, contenant également le centre métallique. Il en va de même pour le plan contenant les atomes  $N_{24}O_wO_{10}O_9$ . L'angle entre ces deux plans est de  $92.74^\circ$ .

Le cycle pyridinique est twisté autour de la liaison  $Co-N_{24}$  d'un angle moyen de  $19.9^\circ$  par rapport au plan  $N_2N_{17}N_{24}$ . Pour le cation  $[Co((rac)bamap)H_2O]^+$ , cet angle est de  $19.8^\circ$ .

Les deux cycles de chélation  $CoN_2C_6C_7O_9$  et  $CoN_{17}C_{13}C_{11}O_{10}$  ont une conformation enveloppe, celle du premier cycle étant légèrement plus plate que celle du deuxième. En ce qui concerne les cycles pyrrolidines, du désordre au niveau du carbone  $C_{15}$  est observé. Deux positions, avec un taux d'occupation de 0.5, ont été choisies. L'atome oscille sur une distance de 1.2 Å. Les conformations de ces deux cycles sont demi-chaise.

La distance  $Co-N(\text{pyridine})$  de 1.846(3) Å est comparable à celle observée dans  $[Co((rac)bamap)H_2O]^+$  [50] et à celle déterminée pour le complexe carbonatohydroxo(2,2';6',2''-terpyridyl) cobalt(III) tétrahydrate [66] (1.846(3) Å). Les distances  $Co-O(\text{carboxylates})$  sont similaires à celles observées pour le complexes  $[Co(Hedta)H_2O].3H_2O$  [67]. La liaison  $Co-O_w$  est allongée (1.961(3)Å) par rapport à celles dans  $Cs[Co(H_2O)_6](SO_4)_2.6H_2O$  (1.873(22)Å) [68] ou dans  $[Co(Hedta)H_2O].3H_2O$  (1.917(3)Å) [67]. Cet allongement est probablement dû à des interactions stériques entre les protons des cycles pyrrolidines et la molécule d'eau.

A partir de la fig. 45, il est possible d'attribuer la configuration absolue  $\Lambda$ -exo au complexe  $[\text{Co}((S,S)\text{promp})\text{H}_2\text{O}]\text{ClO}_4$ . La coordination du  $\text{promp} \cdot 2\text{HCl}$  autour du cobalt(III) est stéréospécifique car seul l'énantiomère  $\Lambda$ -exo est isolé. A partir des spectres CD également, il est possible de déterminer la configuration absolue des autres complexes. Tous les ligands utilisés dans ce travail dont la chiralité est S vont former des complexes inertes de cobalt (III) de configuration absolue  $\Lambda$ -exo, alors que pour les ligands énantiomères, la configuration absolue sera  $\Delta$ -exo. La structure des complexes labiles de fer(II) ou de cobalt (II) suit probablement cette "règle".

## Chapitre 4

### Equilibres de formation et propriétés rédox des complexes labiles de $\text{Fe}^{2+}$ et de $\text{Co}^{2+}$

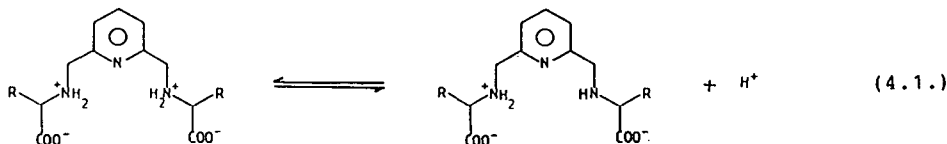
Afin de pouvoir étudier convenablement le transfert d'électron dans le système plastocyanine - complexe  $\text{M(II)L}$  (où le métal M est soit le fer(II) ou le cobalt(II) et le ligand L étant glymp, alamp, valmp ou promp.2HCl), deux propriétés importantes du système  $\text{M(II)L}$  doivent être préalablement déterminées:

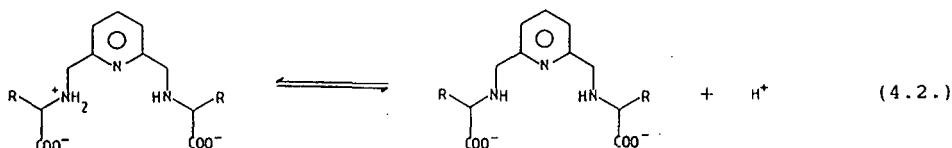
- les constantes de dissociation des ligands glymp, alamp, valmp et promp.2HCl ainsi que les constantes de stabilité des complexes labiles de fer(II) et de cobalt(II) avec ces mêmes ligands
- les potentiels d'oxydo-réduction de ces systèmes  $\text{M(II)L}$

#### 4.1. Constantes de dissociation des ligands

La détermination des constantes de dissociation acide des ligands s'est faite par titration potentiométrique et les calculs ont été effectués au moyen du programme SCOGS [69].

Une mesure typique s'est opérée de la manière suivante: Une solution  $10^{-3}$  M du ligand dans  $\text{KNO}_3$  0.1 M (20 ml) est introduite dans une cuve thermostatisée à  $25^\circ\text{C} \pm 0.1^\circ\text{C}$ , dégazée avec de l'azote pendant 10 minutes puis titrée par NaOH  $10^{-2}$  M sous atmosphère inerte. Les courbes de titration des ligands glymp, alamp et valmp, données aux Fig. 46, 47 et 48, ne montrent qu'un seul saut peu marqué après l'adjonction de deux équivalents de base. Il correspond à la neutralisation des groupes amines protonés, selon les équations (4.1) et (4.2).





Pour le ligand promp.2HCl, un premier saut est observé après deux équivalents, et correspond à la neutralisation des deux protons du chlorhydrate. L'addition de deux équivalents supplémentaires permet la neutralisation des deux amines tertiaires protonées (Fig.49). Les valeurs des constantes d'acidité pour chaque ligand sont données dans le tableau 4.1. Les pKa des acides carboxyliques sont difficiles à déterminer car ces deux fonctions se comportent comme des acides forts. En acidifiant une solution de alamp avec HCl, Pousaz [48] a obtenu un pKa voisin de 2.24 pour cette dissociation. Du fait de l'incertitude élevée sur le pKa de cet équilibre, nous ne l'avons pas mesuré.

#### 4.1.1. Constantes de stabilité des complexes de fer(II)

Les constantes de stabilité des complexes de fer(II) sont évaluées à partir des courbes de titration potentiométrique. Une mesure typique est effectuée de la manière suivante: Une solution  $1.5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$  du ligand dans  $\text{KNO}_3$   $0.1 \text{ M}$  (20 ml) est placée dans une cuve thermostatée à  $25^\circ\text{C} \pm 0.1^\circ\text{C}$ . Après dégazage avec de l'azote pendant une dizaine de minutes, la quantité de sel de Mohr nécessaire pour avoir un rapport fer:ligand de 1:1 y est dissoute. La solution résultante est encore dégazée cinq minutes puis titrée sous gaz inerte par  $\text{NaOH}$   $10^{-2} \text{ M}$ . Les courbes de titration des systèmes Fe(II): glymp, Fe(II):alamp et Fe(II):valmp, données dans les Fig. 46, 47 et 48, ne montrent qu'un seul saut après deux équivalents de base. Après ce point, la courbe de titration du complexe ne rejoint plus la courbe de titration du ligand libre. Cela signifie qu'un nouvel équilibre s'établit: l'hydrolyse de l'acqua complexe selon l'équation (4.3).



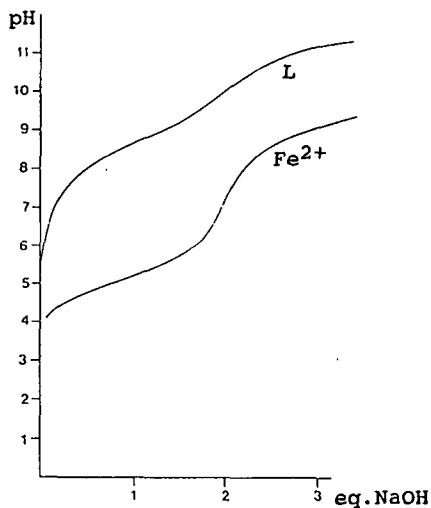


Fig. 46a) Courbes de titration de glymp;  $T = 25^{\circ}\text{C}$   $\mu = 0.1$  ( $\text{KNO}_3$ )

L: Ligand seul  $C_{\text{tot}} = 2.4 \cdot 10^{-3} \text{ M}$

$\text{Fe}^{2+}$ : En présence d'un équivalent de  $\text{Fe}^{2+}$

$C_{\text{lig}} = 2.4 \cdot 10^{-3} \text{ M}$   $C_{\text{Fe}} = 2.3 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ .

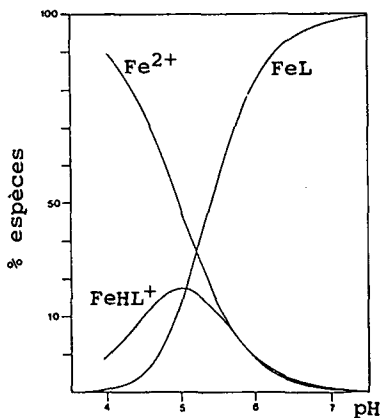


Fig. 46b) Courbes de répartition des espèces en fonction du pH pour le système  $\text{Fe}^{2+}$  : glymp 1:1; conditions idem que pour 1 Fig. 46a).

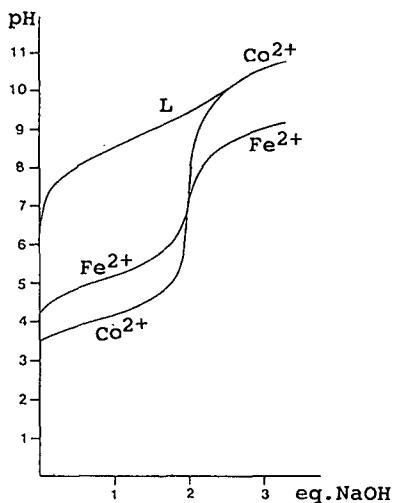


Fig. 47a) Courbes de titration de (S,S)-alamp;  $T=25^{\circ}\text{C}$   $\mu=0.1$  ( $\text{KNO}_3$ )

L: Ligand seul  $C_{\text{tot}} = 2.6.10^{-3}$  M

$\text{Fe}^{2+}$ : En présence d'un équivalent de  $\text{Fe}^{2+}$   $C_{\text{Fe}} = 2.6.10^{-3}$  M

$\text{Co}^{2+}$ : En présence d'un équivalent de  $\text{Co}^{2+}$   $C_{\text{Co}} = 2.4.10^{-3}$  M

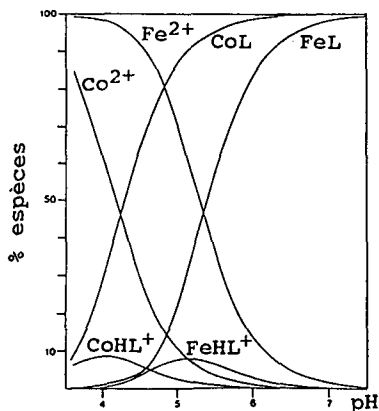


Fig. 47b) Courbes de répartition des espèces en fonction du pH pour les systèmes  $\text{Fe}^{2+}$ :alamp et  $\text{Co}^{2+}$ :alamp 1:1; conditions idem que pour la Fig. 47a).

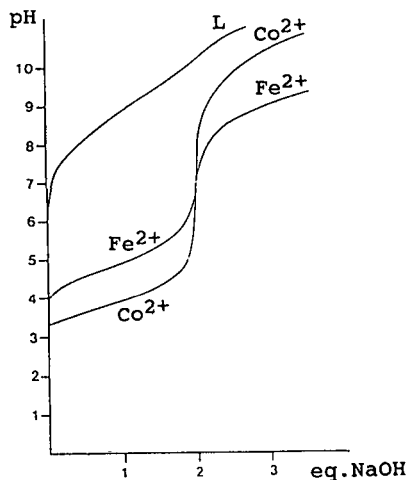


Fig. 48a) Courbes de titration de (S,S)-valmp; T=25°C  $\mu=0.1$  (KNO<sub>3</sub>)

L: Ligand seul  $C_{\text{tot}} = 2.1 \cdot 10^{-3}$  M

Fe<sup>2+</sup>: En présence d'un équivalent de Fe<sup>2+</sup>  $C_{\text{Fe}} = 2.1 \cdot 10^{-3}$  M

Co<sup>2+</sup>: En présence d'un équivalent de Co<sup>2+</sup>  $C_{\text{Co}} = 1.6 \cdot 10^{-3}$  M

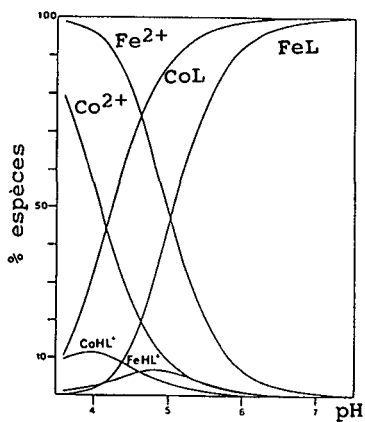


Fig. 48b) Courbes de répartition des espèces en fonction du pH pour les systèmes Fe<sup>2+</sup>:valmp et Co<sup>2+</sup>:valmp 1:1; conditions idem que pour la Fig. 48a).

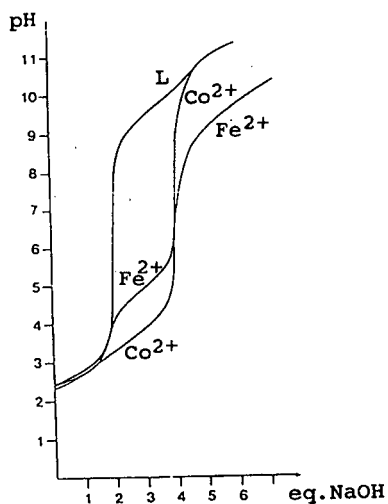
Lorsque cet équilibre est pris en compte pour approximer la courbe de titration expérimentale au moyen du programme SCOGS, la déviation standard globale est nettement plus faible. Cet équilibre améliore donc le fit d'une manière sensible et doit être pris en considération dans le modèle chimique. Par contre, la constante de dissociation qui est obtenue souffre d'une grande imprécision (cf. tableau 4.1). Cela provient du fait qu'à partir d'un pH d'environ 8, un précipité se forme dans la cuve de titration. Cette précipitation, due à une décomposition partielle du complexe, provoque une instabilité du pH.

Pour la titration du système Fe(II):promp.2HCl (Fig. 49), un premier saut est observé après deux équivalents, puis un deuxième après quatre équivalents. Ces sauts correspondent à la neutralisation des protons des deux chlorhydrate puis de ceux du ligand, respectivement. L'hydrolyse de l'aquacomplexe est également bien visible pour ce système. Les constantes de stabilité ainsi que la distribution des espèces calculée avec le programme EQUILIBRE [70] pour les quatre systèmes Fe(II):L, L = glymp, alamp, valmp et promp, sont données dans le tableau 4.1 et aux Fig. 46b) à 49b).

#### 4.1.2. Constantes de stabilité des complexes de cobalt(II)

Les titrations potentiométriques utilisées pour déterminer les constantes de stabilité des complexes de cobalt(II) avec alamp, valmp et promp.2HCl ont été effectuées de manière analogue à celle décrite dans le paragraphe 4.1.1. Le sel de cobalt(II) utilisé est  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  p.a.

Les courbes de titration des systèmes Co(II):alamp et Co(II):valmp (Fig. 47a) et 48a)) ne montrent qu'un seul saut après deux équivalents. Pour le système Co(II):promp.2HCl, le saut se trouve à 4 équivalents (Fig. 49a)). Les constantes de stabilité obtenues avec le programme SCOGS sont réunies dans le tableau 4.1. La distribution des espèces en fonction du pH est donnée dans les Fig. 47b) à 49b).



**Fig. 49a)** Courbes de titration de (S,S)prompt.2HCl;  $T=25^{\circ}\text{C}$   $\mu=0.1$  ( $\text{KNO}_3$ )

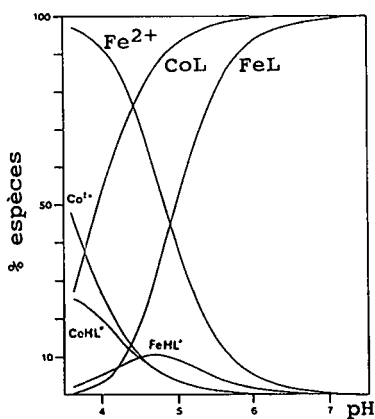
L: Ligand seul  $C_{\text{tot}} = 2.5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$

$\text{Fe}^{2+}$ : En présence d'un équivalent de  $\text{Fe}^{2+}$

$C_{\text{Fe}} = 1.6 \cdot 10^{-3} \text{ M}$   $C_{\text{lig.}} = 1.7 \cdot 10^{-3} \text{ M}$

$\text{Co}^{2+}$ : En présence d'un équivalent de  $\text{Co}^{2+}$

$C_{\text{Co}} = 1.7 \cdot 10^{-3} \text{ M}$   $C_{\text{lig.}} = 1.7 \cdot 10^{-3} \text{ M}$



**Fig. 49b)** Courbes de répartition des espèces en fonction du pH pour les systèmes  $\text{Fe}^{2+}$  prompt et  $\text{Co}^{2+}$ :prompt 1:1, conditions idem que pour Fig. 49a).

Tableau 4.1. Constantes de dissociation acide ( $-\log K_a$ ) et de formation de complexes ( $\log \beta$ ) pour les différents ligands étudiés dans ce travail.

| Equilibre                                  | glymp            | alamp            | valmp            | promp.2HCl       |
|--------------------------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| $H_2L \rightleftharpoons H^+ + HL^-$       | $8.16 \pm 0.05$  | $8.24 \pm 0.02$  | $8.03 \pm 0.04$  | $9.33 \pm 0.03$  |
| $HL^- \rightleftharpoons H^+ + L^{2-}$     | $9.24 \pm 0.05$  | $9.06 \pm 0.02$  | $9.13 \pm 0.02$  | $10.02 \pm 0.04$ |
| $Fe^{2+} + L^{2-} \rightleftharpoons FeL$  | $10.19 \pm 0.04$ | $9.75 \pm 0.07$  | $10.23 \pm 0.05$ | $12.68 \pm 0.03$ |
| $FeHL^+ \rightleftharpoons FeL + H^+$      | $5.17 \pm 0.08$  | $4.72 \pm 0.09$  | $4.25 \pm 0.05$  | $4.34 \pm 0.05$  |
| $FeLOH_2 \rightleftharpoons FeLOH^- + H^+$ | -----            | $8.75 \pm 0.10$  | $8.49 \pm 0.10$  | $8.65 \pm 0.12$  |
| $Co^{2+} + L^{2-} \rightleftharpoons CoL$  | -----            | $11.97 \pm 0.03$ | $12.21 \pm 0.05$ | $15.01 \pm 0.07$ |
| $CoHL^+ \rightleftharpoons CoL + H^+$      | -----            | $3.57 \pm 0.07$  | $3.37 \pm 0.12$  | $3.67 \pm 0.05$  |

Tableau 4.2. Constantes de dissociation acide ( $-\log K_a$ ) de différents acides aminés [71]

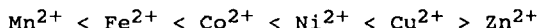
| Equilibre                              | glycine         | alanine         | valine          | proline          |
|----------------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|
| $H_2L \rightleftharpoons H^+ + HL^-$   | $2.36 \pm 0.03$ | $2.30 \pm 0.02$ | $2.26 \pm 0.02$ | $1.90 \pm 0.1$   |
| $HL^- \rightleftharpoons H^+ + L^{2-}$ | $9.57 \pm 0.04$ | $9.69 \pm 0.04$ | $9.49 \pm 0.03$ | $10.38 \pm 0.03$ |

#### 4.1.3. Discussion

La comparaison des constantes de dissociation des acides aminés libres (cf. tableau 4.2.) avec celles des ligands synthétisés correspondants (cf. tableau 4.1.), indique que la substitution d'un reste méthyl pyridinine sur la fonction amine abaisse le pKa de cette dernière. Cela signifie que la densité électronique sur l'azote est affaiblie à cause d'un effet -E du noyau aromatique. Cette influence est importante, car le pKa moyen des ligands synthétisés est environ 0.7 à 1 unité pH inférieur à celui des acides aminés libres.

Généralement, il est admis que la stabilité d'un complexe diminue lorsque la basicité du ligand diminue. Dans le cas où le ligand contient une pyridine, cette "loi" présente souvent des exceptions [51,52]. Selon Martell & al. [52], la diminution de la basicité des azotes pyridiniques substitués en ortho entraîne une moins grande compétition entre les protons et les ions métalliques. La coordination du métal sur l'azote coordinateur devient de ce fait plus efficace.

La stabilité des complexes de cobalt(II) avec les ligands alamp, valmp et promp est environ cent fois supérieure à celle des complexes de fer(II). Cette observation est en accord avec l'ordre de stabilité mentionné par Irving et Williams [72], qui est:



Dans le cas des complexes de cobalt(II), l'équilibre d'hydrolyse de l'acqua complexe n'est pas mesurable. L'acidité de la molécule d'eau coordonnée sur la sixième position est très faible. Dans le cas du fer(II) par contre, le pKa de cet équilibre est déterminable (bien qu'entaché d'une erreur importante, due à la précipitation de sels de fer lors de la titration). Cela dénote un caractère d'acide de Lewis plus fort pour le fer(II) que pour le cobalt(II).

## 4.2. Potentiels rédox des complexes

Les théories concernant les réactions de transfert d'électrons du type sphère externe prévoient une relation entre la vitesse de transfert de l'électron et la différence de potentiel entre le donneur et l'accepteur d'électron. Parmi toutes ces théories, la plus souvent utilisée est celle développée par Marcus [73] (cf. chapitre 5.). Il est donc clair qu'une connaissance des potentiels d'oxydo-réduction est nécessaire pour une interprétation théorique des observations expérimentales.

### 4.2.1. Complexes de fer(II)

La détermination des potentiels d'oxydo-réduction a été effectuée par mesure polarographique et par voltamétrie cyclique. Du fait que les ligands glymp, alamp, valmp et promp.2HCl sont pentadentés, la sixième position du complexe labile de fer(II) est libre et peut être occupée par différents ligands monodentés (cf. Fig. 10). L'influence de ce sixième ligand sur le potentiel rédox a également été étudiée en mesurant les polarogrammes/voltamogrammes dans un tampon phosphate ou imidazole.

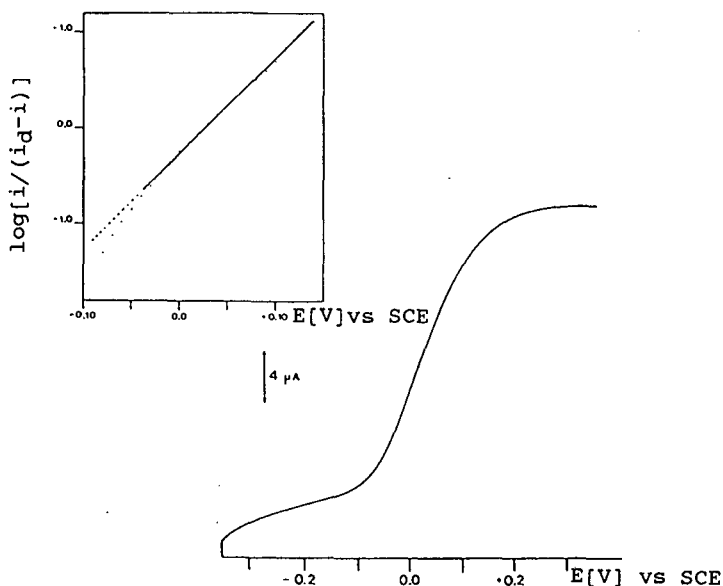
Une mesure typique est effectuée de la manière suivante: Une solution  $10^{-3}M$  de ligand (20 ml), préparée en dissolvant la quantité nécessaire du ligand dans un tampon phosphate (ou imidazole)  $\mu=0.1$  ( $KNO_3$ ), est introduite dans une cuve thermostatisée à  $25^\circ C \pm 0.1^\circ C$ . Après avoir dégazé la solution en y faisant passer un courant d'azote pendant une dizaine de minutes, un équivalent de sel de Mohr p.a. y est dissous. Le pH est amené à  $7.00 \pm 0.02$  par adjonction de quelques gouttes de NaOH 1M. 5 ml d'une solution de gélatine à 0.5% sont encore ajoutés puis le polarogramme est enregistré. Les électrodes de travail et auxiliaires sont en platine, alors que la référence est une électrode au calomel.

Les mesures volatmétriques s'effectuent d'une manière analogue. Un exemple de polarogramme et de voltamogramme sont donnés aux Fig. 50 et 51. Les potentiels de demi-vague sont indiqués dans le tableau 4.3.

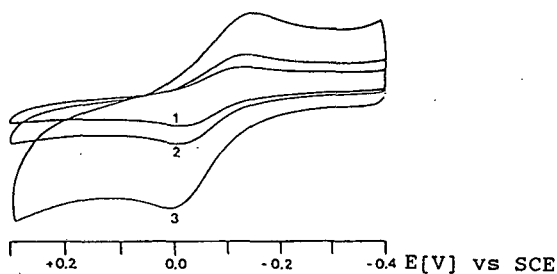
#### 4.2.2. Complexes de cobalt(II) et de cobalt(III)

Pour les complexes labiles de cobalt(II) avec alamp, valmp et promp, les solutions de mesure ont été préparées de manière analogue à celle décrite au paragraphe 4.2.1. Les polarogrammes obtenus dans les deux tampons phosphate et imidazole (Fig. 52) présentent une vague très large et non interprétable.

Les mesures effectuées sur des solution  $10^{-3}M$  des pyridino complexes de cobalt(III) avec (S,S)-alamp, (S,S)-valmp et (S,S)-promp dans un tampon phosphate à  $pH = 7.00 \pm 0.02$  présentent uniquement une vague cathodique, comme le montre la Fig. 53. Les potentiels de demi-vague et de pic sont indiqués dans le tableau 4.4.



**Fig. 50** Vague polarographique obtenue pour le système  $\text{Fe}^{2+}$ :promp 1:1. Tampon phosphate pH=7.0,  $T=25^\circ\text{C}$ ,  $\mu=0.1$ , électrode de travail au platine.



**Fig. 51** Voltamogramme du système  $\text{Fe}^{2+}$ :promp 1:1. Tampon phosphate pH=7.0,  $T=25^\circ\text{C}$ ,  $\mu=0.1$ , électrode de travail au platine.  
 1: Vitesse de balayage 50 mV/sec  
 2: Vitesse de balayage 100 mV/sec  
 3: Vitesse de balayage 400 mV/sec

Tableau 4.3. Détermination des potentiels de demi-vague pour les systèmes Fe(II) - Ligand , électrode de platine, T=25°C,  $\mu=0.1$  (KNO<sub>3</sub>)

| Ligand | [Fe <sup>2+</sup> ]<br>[M] | [Ligand]<br>[M]       | Tampon <sup>a</sup> | pH   | Méthode <sup>b</sup> | E <sub>1/2</sub><br>vs. NHE |
|--------|----------------------------|-----------------------|---------------------|------|----------------------|-----------------------------|
| alamp  | 1.25.10 <sup>-3</sup>      | 1.33.10 <sup>-3</sup> | Imidazole           | 7.06 | P                    | +0.14 ± 0.01                |
| valmp  | 1.27.10 <sup>-3</sup>      | 1.34.10 <sup>-3</sup> | Imidazole           | 6.91 | P                    | +0.18 ± 0.01                |
| promp  | 1.30.10 <sup>-3</sup>      | 1.38.10 <sup>-3</sup> | Imidazole           | 6.85 | P                    | +0.22 ± 0.01                |
| alamp  | 0.75.10 <sup>-3</sup>      | 0.95.10 <sup>-3</sup> | Phosphate           | 6.80 | V.C.                 | +0.08 ± 0.01                |
| valmp  | 0.66.10 <sup>-3</sup>      | 0.97.10 <sup>-3</sup> | Phosphate           | 6.89 | V.C.                 | +0.12 ± 0.02                |
| promp  | 0.74.10 <sup>-3</sup>      | 0.97.10 <sup>-3</sup> | Phosphate           | 6.89 | V.C.                 | +0.17 ± 0.01                |

a: Tampon phosphate: 1.527g de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 2.774g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O dans 500 ml  
 Tampon imidazole: 1.706g Imidazole dans 500 ml, pH amené à 7 avec HCl 1M

b: p: polarographie  
 V.C.: voltamétrie cyclique

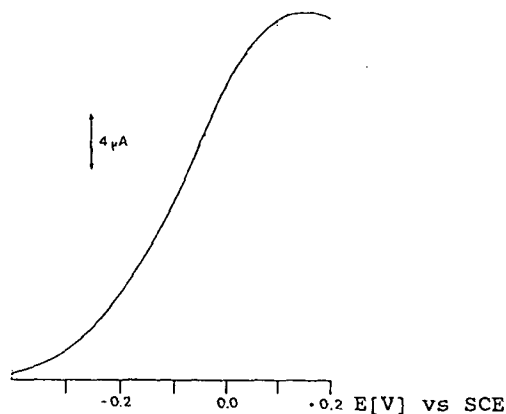


Fig. 52 Vague polarographique obtenue pour le système  $\text{Co}^{2+}$ :valmp 1:1. Tampon imidazole pH=7.0,  $\mu=0.1$ , électrode de travail au platine.

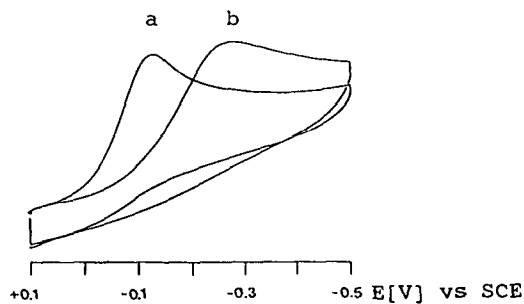


Fig. 53 Voltamogramme d'une solution  $10^{-3}$  M de:  
 a)  $-\text{[Co((S,S)promp)py]ClO}_4$  dans  $\text{KNO}_3$  0.1 M  
 b)  $-\text{[Co((S,S)promp)H}_2\text{O]ClO}_4$  dans  $\text{KNO}_3$  0.1 M  
 Electrode de travail au platine  
 Vitesse de balayage 100 mV/sec.

Tableau 4.4. Détermination des potentiels de demi-vague et de pic par voltamétrie cyclique pour les pyridino complexes de cobalt(III) avec les ligands étudiés dans ce travail,  $T = 25^{\circ}\text{C}$   
 $\mu = 0.1$  ( $\text{KNO}_3$ ) Tampon phosphate  $\text{pH} = 7.00 \pm 0.02$

| Complexe                                                           | [Complexe]<br>[M]    | $E_{\text{pic}}$<br>[V] v.s. NHE | $E_{\frac{1}{2}}$<br>[V] v.s. NHE |
|--------------------------------------------------------------------|----------------------|----------------------------------|-----------------------------------|
| $[\text{Co}((\text{S},\text{S})\text{alamp})\text{py}]^+$          | $0.97 \cdot 10^{-3}$ | $-0.09 \pm 0.02$                 | $+0.02 \pm 0.02$                  |
| $[\text{Co}((\text{S},\text{S})\text{valmp})\text{py}]^+$          | $0.96 \cdot 10^{-3}$ | $-0.15 \pm 0.02$                 | $-0.04 \pm 0.02$                  |
| $[\text{Co}((\text{S},\text{S})\text{promp})\text{py}]^+$          | $0.87 \cdot 10^{-3}$ | $+0.03 \pm 0.02$                 | $+0.15 \pm 0.02$                  |
| $[\text{Co}((\text{S},\text{S})\text{promp})\text{H}_2\text{O}]^+$ | $0.92 \cdot 10^{-3}$ | $-0.06 \pm 0.02$                 | $+0.04 \pm 0.02$                  |

#### 4.2.3 Discussion

Les voltamogrammes obtenus pour tous les complexes de fer(II)-L avec L = alamp, valmp et promp montrent que ces systèmes se comportent de manière quasi-réversible. La séparation entre le pic anodique et cathodique est toujours supérieure à 100 mV (cf. Fig. 51). Dans le cas réversible, cette séparation doit valoir théoriquement 59 mV pour un nombre d'électrons échangé égal à un. Un test pour déterminer la réversibilité d'une réaction électrochimique est de représenter, à partir du polarogramme,  $E = f[\log(i/(i_d-i))]$   $i_d$ =courant de diffusion limite,  $i$ =courant obtenu au potentiel E. Pour le cas réversible, la droite que l'on obtient doit avoir une pente de  $0.059/n$  avec  $n$  = nombre d'électrons échangés. La Fig. 50 représente la vague polarographique pour l'oxydation du système fer(II)-promp dans un tampon phosphate. La représentation  $E = f[\log(i/(i_d-i))]$  calculée à partir de cette courbe expérimentale est donnée en encadré dans la Fig. 50. La droite obtenue est caractérisée par une pente de 0.098 V, correspondant à un transfert de 0.6 électrons. Cette quasi-réversibilité s'observe également dans le tampon imidazole.

Dans le cas où le centre métallique est le cobalt(II), le système a un comportement électrochimique de type irréversible. Les vagues polarographiques deviennent très larges.

Les voltamogrammes obtenus pour les pyridino complexes de cobalt(III) ne montrent qu'une seule vague cathodique; la vague anodique est insignifiante (cf. Fig. 53). Ceci est également le signe d'un comportement irréversible. A cause de ce comportement non-nernstien, le potentiel  $E_{\frac{1}{2}}$  ne correspond plus à  $E_0$ . Le potentiel de demi-vague n'est plus déterminé par des facteurs thermodynamiques mais par la cinétique de transfert de charges.

Les valeurs  $E_{\frac{1}{2}}$  des complexes inertes de cobalt(III) données dans le tableau 4.4. ont été déterminées en considérant le point de demi-vague pour la vague de réduction uniquement.

Le milieu influence d'une manière significative le processus d'oxydation pour le système fer(II)-L. Le tableau 4.3. montre que les valeurs  $E_{\frac{1}{2}}$  obtenues dans le tampon phosphate sont toujours inférieures à celles obtenues dans le tampon imidazole, et ceci pour tous les ligands étudiés dans ce travail. Le ion phosphate, ainsi que l'imidazole, ont la possibilité de se coordonner sur la sixième position laissée libre lors de la coordination du ligand autour du fer(II) (cf. Fig. 10). D'après le déplacement des vagues, le phosphate stabilise plus fortement le complexe que l'imidazole.

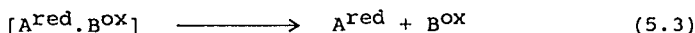
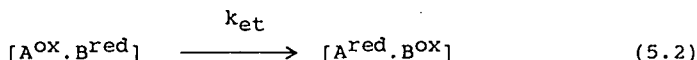
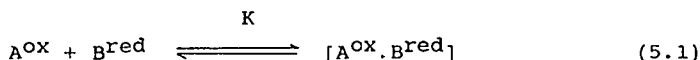
## Chapitre 5

### Cinétique de transfert d'électron

#### 5.1. Généralités concernant le transfert d'électron stéréosélectif

La mise en évidence sans ambiguïté d'une stéréosélectivité dans le transfert d'électrons (TE) entre deux complexes inorganiques date d'une dizaine d'années [74]. Depuis lors, une quinzaine d'articles ont été publiés [75] et le concept de préférence pour un énantiomère lors du TE est maintenant bien bien établi. Au début de ces études, beaucoup de résultats ont été sujet à controverse car les différences de vitesse ou d'enrichissement observés entre deux énantiomères sont généralement faibles, de l'ordre de 10 à 15 % au maximum. Une des conditions pour l'observation d'une stéréosélectivité dans le TE est de choisir un système pour lequel les espèces formées à la fin de la réaction ne réagissent pas avec le réactif de départ par auto-échange. En effet, il a été observé que beaucoup de systèmes racémisent par auto-échange. Si cet auto-échange est plus rapide que le TE entre les réactifs, l'observation d'une reconnaissance chirale est impossible.

Les études des réactions d'oxydo-réduction entre métaux de transition ont montré qu'il existe deux types de mécanismes pour le TE, dénommés sphère externe et sphère interne. Bien qu'il n'ait pas été démontré formellement, le mécanisme qu'utilise la plastocyanine, ainsi que pratiquement toutes les autres protéines, est probablement de type sphère externe. Pour un tel mécanisme, on postule généralement la formation préalable d'un complexe précurseur entre les deux réactifs, suivi du TE dans ce complexe [76]. (Equations (5.1) à (5.3)).



La reconnaissance chirale peut intervenir à deux niveaux: lors de la formation du complexe précurseur (un des deux énantiomères forme un complexe précurseur énergétiquement plus favorable) ou lors du transfert de l'électron proprement dit (un des deux énantiomères possède un recouvrement orbitalaire meilleur avec l'autre réactif). La différenciation entre ces deux alternatives n'est possible que lorsque un phénomène de saturation est observé. On peut par contre obtenir quelques informations sur la formation du complexe précurseur en examinant la stéréosélectivité dans la formation de paires d'ions entre les complexes inertes analogues [77, 78].

Un formalisme mathématique permettant de traiter le TE sphère externe a été développé par Marcus [79]. Le modèle qui sert de base à cette théorie suppose qu'une réaction de TE peut avoir lieu si les réactifs s'approchent suffisamment pour que le couplage entre leurs orbitales électroniques soit maximum et qu'en même temps, les coordonnées nucléaires de chaque réactif changent pour s'adapter à celles correspondant aux produits. Ces coordonnées nucléaires concernent les termes vibrationnels et de position de toutes les molécules impliquées dans la réaction, à savoir les réactifs, les molécules du solvant et les produits. L'énergie totale de ce système (réactif et solvant), qui va déterminer les caractéristiques du TE, est une fonction de toutes ces coordonnées (plusieurs milliers!). Il est donc évident que les théories développées ne peuvent être qu'approximatives. La théorie classique de Marcus est basée sur les hypothèses suivantes:

- Le principe de Franck - Condon est applicable. Il s'ensuit que le TE aura lieu uniquement lorsque les réactifs et le solvant auront une configuration énergétique intermédiaire entre celle initiale et celle correspondant à la situation finale.

- Toutes les réorganisations des modes de vibration interne et du solvant qui ont lieu avant le TE suivent la loi de Boltzman (c.a.d. les niveaux d'énergie sont remplis de manière classique,  $h\nu \ll kT$ ).

- La réaction de TE nécessite un relativement grand couplage entre les orbitales des réactifs (réaction adiabatique). Lorsque ce n'est pas le cas, par exemple lorsque le TE se déroule sur de longues distances, la réaction est appelée non - adiabatique.

La détermination de la constante de vitesse du TE,  $k$ , revient à calculer la probabilité du système initial (réactif et solvant) pour atteindre une situation intermédiaire favorable à la réaction.

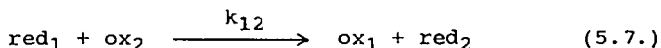
$$k = \Gamma(r) \cdot A \cdot \sigma^2 \cdot \exp(-\Delta G^*/RT) \quad (5.4.)$$

où  $\Gamma(r)$  est le coefficient de transmission et correspond à la probabilité que l'électron soit transféré lorsque la paire réactive est formée. Dans le cas adiabatique,  $\Gamma(r) = 1$  (chaque paire réactive formée conduit à une réaction).  $A \cdot \sigma^2$  a les dimensions d'une fréquence de collision,  $\sigma$  étant la distance moyenne entre les deux centres métalliques durant le TE et  $\Delta G^*$  est l'énergie libre d'activation.

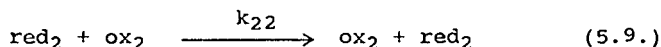
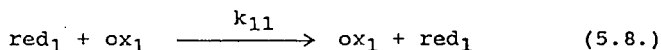
$$\Delta G^* = w^r + \lambda / 4 \cdot (1 + \Delta G^0 / \lambda)^2 \quad (5.5.)$$

$$\Delta G^0 = \Delta G^0 + w^p + w^r \quad (5.6.)$$

$\Delta G^0$  est l'énergie libre standard de la réaction,  $w^r$  et  $w^p$ , le travail nécessaire pour amener les réactifs ou éloigner les produits respectivement à la distance  $\sigma$  et  $\lambda$ , l'énergie de réorganisation. La relation classique (5.10.) proposée par Marcus, dérive des équations (5.4.) à (5.6.) en remarquant que pour la réaction (5.7.),



$\lambda_{12}$  est approximativement la moyenne des  $\lambda$  pour les réactions d'auto-échange (5.8.) et (5.9.)



$$k_{12} = (k_{11} \cdot k_{22} \cdot K_{12} \cdot f_{12})^{\frac{1}{2}} \quad (5.10.)$$

$k_{12}$  = constante de vitesse pour la réaction (5.7.)

$k_{11}, k_{22}$  = constante d'auto-échange, équations (5.8.) et (5.9.) respectivement

$K_{12}$  = constante d'équilibre de la réaction (5.1.) et est donc égale à  $\exp(-\Delta G^0/RT)$

$$\ln(f_{12}) = 1/4[(\ln K_{12})^2 / \ln(k_{11} \cdot k_{22} / Z^2)] \quad (5.11.)$$

$f_{12}$  est généralement proche de 1.

Pour les réactions entre des protéines et des réactifs inorganiques, il est possible de déterminer, à partir de la valeur d'auto-échange  $k_{11}$  du complexe inorganique (connues pour un certain nombre de systèmes) et de la constante de vitesse de la réaction  $k_{12}$ , la valeur de  $k_{22}$  pour la protéine. Selon le formalisme décrit ci-dessus,  $k_{22}$  doit être constant quel que soit la réaction étudiée, pour autant que le TE aie lieu sur le même site protéinique. Dans le cas de la plastocyanine, cette valeur de la vitesse d'auto-échange

varie passablement, allant de  $32 \text{ M}^{-1}\text{sec}^{-1}$  pour la réaction avec  $[\text{Fe}(\text{dipic})_2]^{2-}$  [80] à  $2.3 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}\text{sec}^{-1}$  pour la réaction avec  $[\text{Co}(\text{dipic})_2]^-$  [80]. Ces variations ont été attribuées à une non-adiabaticité de la réaction ou à un phénomène d'"electron tunneling".

Le TE pour les systèmes biologiques a quelques particularités spécifiques comparé à celui pour les complexes inorganiques. La différence la plus importante est que la nature même des protéines empêche les deux centres rédox des deux réactifs d'entrer en contact direct. Le TE se déroule sur une distance plus longue et si l'électron se déplace à travers le diélectrique ("through space"), on peut s'attendre à ce que la vitesse varie exponentiellement avec la distance [79]. Si l'électron suit les liaisons lors du transfert ("through bond"), la vitesse dépendra de la distance selon une loi en  $1/r$ .

D'autre part, le site actif des protéines représente seulement une toute petite fraction de l'ensemble de la surface protéinique. La partie environnant le site où le TE a lieu joue pourtant un rôle important dans :

- la reconnaissance du partenaire rédox. Elle va permettre d'optimiser les orientations relatives des réactifs pour contrôler la probabilité du transfert électronique [81]
- la formation d'une structure dans laquelle les chaînes latérales sont bien orientées afin de promouvoir un TE aussi efficace que possible entre les deux sites actifs.

L'idée d'une reconnaissance chirale dans le TE entre protéines ou complexes inorganiques et protéines n'est pas très ancienne. En 1978, A.G.Sykes [82] essaie de mettre en évidence une telle différence de réactivité pour l'oxydation de la ferredoxine de peuplier avec  $\Lambda - [\text{Co}(\text{en})_3]^{3+}$  et  $\text{rac} - [\text{Co}(\text{en})_3]^{3+}$ , mais n'observe aucune différence. Le même résultat est obtenu pour la réduction du cytochrome c du coeur de cheval par  $\Lambda -$  ou  $\Lambda - [\text{Co}(\text{sep})]^{2+}$  [83]. Le premier cas de stéréosélectivité lors d'une réaction de TE entre une métalloprotéine et un complexe métallique mentionné dans la

littérature est la réaction entre la plastocyanine de l'épinard et  $[\text{Fe}(\text{alamp})]$ , réaction étudiée dans ce travail [84]. Trois exemples ont depuis lors été décrits où une stéréosélectivité a été mise en évidence; il s'agit de la réaction entre le cytochrome c du coeur de cheval et  $(+/-)-[\text{Co}(\text{acac})_3]$  [85] où la forme  $\Delta$  est obtenue en léger excès (0.3 - 1.1 % dépendant du pH). La seconde réaction est l'oxydation de cytochrome c du coeur de cheval par  $(+/-)-[\text{Co}(\text{ox})_3]^{3+}$  [86]. Dans ce cas, c'est l'énantiomère  $\Delta$  qui se trouve en excès (environ 9 %), indiquant que  $\Delta-[\text{Co}(\text{ox})_3]^{3+}$  réagit préférentiellement. Des expériences de stéréosélectivité dans la formation de paires d'ions pour ce système ont montré que l'isomère  $\Delta-[\text{Co}(\text{ox})_3]^{3+}$  se lie préférentiellement à la protéine ( $K_{\Delta}/K_A$ ) = 1.04 [86]. L'oxydation de la ferredoxine d'épinard par les complexes  $[\text{Co}(\text{alamp})\text{py}]^+$ ,  $[\text{Co}(\text{alamp})\text{H}_2\text{O}]^+$  et  $[\text{Co}(\text{promp})\text{py}]^+$  présente également une stéréosélectivité, comme l'a montré M. Monziane & al. [87]

## 5.2. Cinétiques de la réduction de PCu(II) par les complexes de fer(II)

Dans ce paragraphe, la méthode ainsi que les résultats obtenus pour la réduction de PCu(II) par les complexes de fer(II) avec alamp, valmp et promp.2HCl sont décrits.

### 5.2.1. Solutions

#### Plastocyanine

L'isolation et la purification de la protéine est effectuée selon le mode opératoire suivant: l'extraction et la précipitation à partir de feuilles d'épinard fraîches est effectuée comme décrit dans [88] sauf que l'addition de sulfate d'ammonium est stoppée lorsque l'on a atteint 80 % de saturation. La solution surnageante est collectée et chromatographiée sur une colonne échangeuse d'ions (Whatman DE 23), comme indiqué dans [89]. La colonne est lavée avec quatre volumes de Tris/HCl (0.05 M pH = 7.9) contenant  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  à 60 % de la saturation et éluée avec le même tampon contenant du sulfate d'ammonium à 30 % de la saturation. Les fractions colorées contenant la plastocyanine dans sa forme réduite, la ferredoxine et d'autres protéines sont combinées et concentrées par ultra-centrifugation sur une membrane YM-5 (AMICON). La solution concentrée de protéine est chromatographiée sur une colonne Sephadex G-50 équilibrée avec le tampon Tris/HCl (0.05 M pH = 7.3) contenant du NaCl 0.05 M. La plastocyanine est détectée par l'addition de  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  dans les fractions. La purification finale est effectuée par chromatographie d'échange d'ions sur une colonne DEAE-trisacryl (2.6cm x 36cm) équilibrée avec le même tampon utilisé dans l'étape précédente. Les protéines sont éluées au moyen de deux litres d'un gradient linéaire de NaCl dans Tris/ HCl (0.05 M pH = 7.3). Les fractions contenant la plastocyanine, qui est éluée dans la forme

réduite et détectée par l'apparition de la couleur bleue lors de l'adjonction de  $K_3[Fe(CN)_6]$ , sont concentrées et diafiltrées avec Tris/HCl par ultrafiltration sur une membrane YM-5 avant d'être conservées dans le congélateur à  $-20^\circ C$ . La purification par chromatographie par échange d'ions est répétée jusqu'à ce que le rapport des absorptions  $A_{258}/A_{279}$  soit plus petit ou égal à 1.8.

La solution de plastocyanine de l'épinard utilisée lors des mesures cinétiques est préparée en diluant 1 ml d'une solution concentrée de cette protéine (environ  $10^{-3}$  M) à 50 ml avec le tampon phosphate (voir ci-dessous). La concentration de la protéine est calculée à partir de la valeur de l'absorption à  $\lambda = 597$  nm avec  $\epsilon = 4900 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  [90].

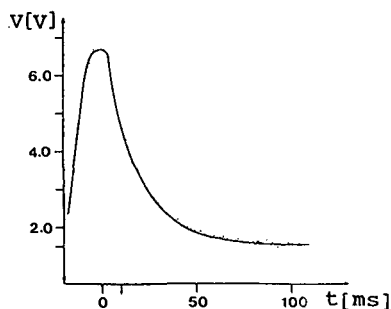
### Complexes de fer(II)

Une mesure cinétique typique s'effectue de la manière suivante: une solution de complexe est préparée en pesant dans un ballon jaugé la quantité de sel de Mohr nécessaire pour avoir une concentration d'environ  $3 \cdot 10^{-3}$  M et une concentration d'environ  $4.5 \cdot 10^{-3}$  M en ligand. Les deux substances sont dissoutes dans un tampon phosphate  $KH_2PO_4 / Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ , préparé de manière à obtenir une solution de pH = 7 et une force ionique  $\mu = 0.11$  (1.53 g de  $KH_2PO_4$  et 2.78 g de  $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$  dans 500 ml d'eau bidistillée). Le tampon est dégazé et conservé sous azote. Le pH de la solution de complexe est mesuré et ajusté à 7 par adjonction de quelques gouttes de NaOH 1M puis le volume est complété jusqu'au trait de jauge avec le tampon phosphate. Les solutions de concentration inférieure à  $3 \cdot 10^{-3}$  M sont préparées par dilution de la solution plus concentrée avec le tampon phosphate. Toutes les solutions sont purgées à l'azote (purifié par passage sur une colonne contenant le catalyseur BTS chauffé à  $150^\circ C$ ) et maintenues sous atmosphère inerte durant toute la durée des mesures.

### 5.2.2. Mesures

Toutes les mesures cinétiques sont effectuées à  $T = 25^{\circ}\text{C} \pm 0.01^{\circ}\text{C}$  et dans des conditions de pseudo-premier ordre, la concentration en complexe étant au minimum 15 fois supérieure à celle de la protéine. Les cinétiques sont mesurées alternativement avec l'un ou l'autre des complexes énantiomères avec la même solution de plastocyanine. Ainsi, les conditions réactionnelles sont identiques pour chaque énantiomère et les résultats peuvent être comparés.

Les réactions sont rapides et sont enregistrées au moyen d'un spectrophotomètre stopped-flow, en déterminant la diminution d'absorption à  $\lambda = 597 \text{ nm}$ . Six injections reproductibles pour chaque condition sont enregistrées puis les données digitalisées sont traitées au moyen du programme STOFLOW [91]. A titre d'exemple, nous décrivons ci-dessous le traitement typique d'une cinétique. La Fig. 54 représente la courbe cinétique mesurée au moyen du stopped-flow et la Fig. 55 est la représentation de  $\ln(V-V_{\infty}) = f(t)$  pour cette même réaction. Un tel graphe est linéaire pendant trois demi-vies au minimum. Les constantes de vitesse du pseudo-premier ordre pour le TE entre PCu(II) et les complexes [Fe(II)alamp], [Fe(II)valmp] et [Fe(II)promp], calculées au moyen du programme STOFLOW sont réunies dans l'annexe 1 et représentent la moyenne de six injections indépendantes.



**Fig. 54** Courbe cinétique de la réduction de PCu(II) par [Fe(II)(R,R)alamp]. Tampon phosphate,  $\text{pH}=7.0$ ,  $\mu=0.11$ ,  $T=25^{\circ}\text{C}$ , réaction suivie à  $597 \text{ nm}$ .

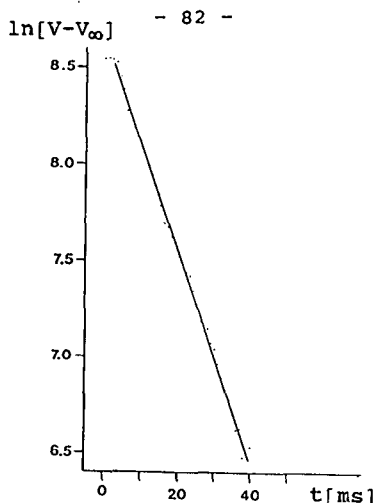


Fig. 55 Traitement  $\ln[V-V_{\infty}] = f(t)$  pour la cinétique donnée à la Fig. 54.

### 5.2.3. Système [Fe(II)alamp]

La vitesse de réduction de PCu(II) par le système Fe(II)alamp a été mesurée en fonction de la concentration du complexe, en fonction du tampon (phosphate ou imidazole) ainsi qu'à différents pH dans un tampon phosphate. Les valeurs de  $k_{obs}$  obtenues (annexe 1) montrent que la réaction est diastéréosélective dans toutes ces conditions différentes. La représentation  $k_{obs} = f([Fe(II)L])$  dans un tampon phosphate et dans un tampon imidazole à pH = 7, est linéaire dans le domaine de concentration étudié, allant de  $2 \cdot 10^{-4}$  M à  $2 \cdot 10^{-3}$  M, Fig. 56. Les concentrations en complexe dans le mélange réactionnel ont été calculées au moyen des constantes de formation données au chapitre 4. A partir de la pente d'une telle représentation, il est possible de déterminer la constante de vitesse du deuxième ordre pour ce système.

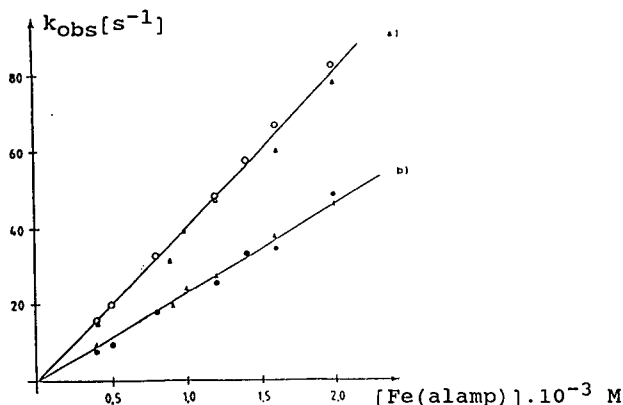


Fig. 56 Représentation  $k_{obs} = f([Fe(II)alamp])$ .

a) Pour (R,R)-alamp

b) Pour (S,S)-alamp

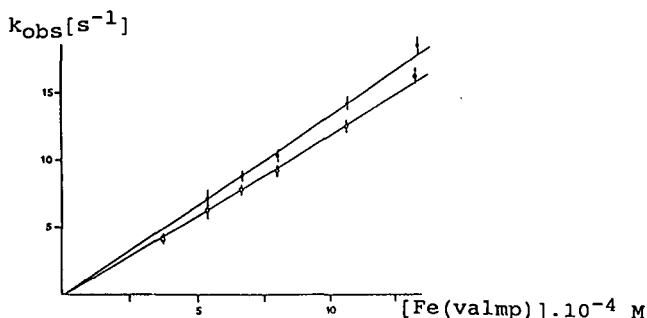
● Tampon phosphate ▲ Tampon imidazole

pH=7.0  $\mu=0.1$  T=25°C

Pour ce système, la dépendance de la vitesse en fonction du pH a été déterminée à pH = 6.13 et 5.00. Pour ce dernier pH, un tampon acide acétique/acétate de sodium a été utilisé. La variation de  $k_{obs}$  en fonction de la concentration en complexe, est également linéaire dans le domaine étudié.

#### 5.2.4. Système [Fe(II)valmp]

La détermination de la constante de vitesse du deuxième ordre pour la réduction de PCu(II) par ce système a été effectuée dans un tampon phosphate pH = 7.00 uniquement. Les valeurs des  $k_{obs}$  obtenues sont réunies dans l'annexe 1 et la représentation  $k_{obs} = f([Fe(II)valmp])$  est donnée dans la Fig. 57.



**Fig. 57** Représentation  $k_{obs} = f([Fe(II)valmp])$

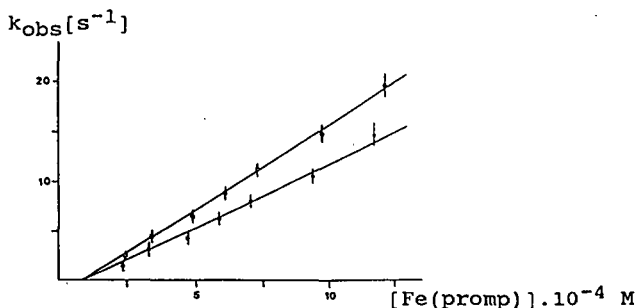
● Pour (R,R)-valmp

○ Pour (S,S)-valmp

$T=25^{\circ}C$   $pH=7.0$  (tampon phosphate)  $\mu=0.11$

#### 5.2.5. Système $[Fe(II)promp]$

La détermination de la constante de vitesse du deuxième ordre pour la réduction de  $PCu(II)$  par ce système a été effectuée dans un tampon phosphate  $pH = 7.00$  uniquement. Les valeurs des  $k_{obs}$  obtenues sont réunies dans l'annexe 1 et la représentation  $k_{obs} = f([Fe(II)promp])$  est donnée dans la Fig. 58. Les valeurs des constantes de vitesse de deuxième ordre pour tous les ligands étudiés sont réunies dans le tableau 5.1.



**Fig. 58** Représentation  $k_{obs} = f([Fe(II)promp])$

● Pour (R,R)-promp

○ Pour (S,S)-promp

$T=25^{\circ}C$   $pH=7.0$  (tampon phosphate)  $\mu=0.11$

Tableau 5.1. Constantes de vitesse du deuxième ordre et stéréosélectivité pour la réduction de  $\text{PCu(II)}$  avec les différents complexes de fer(II) optiquement actifs utilisés dans ce travail.

$T = 25^\circ\text{C}$   $\mu = 0.1$   $[\text{PCu(II)}] \cong 2.10^{-5}\text{M}$

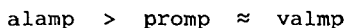
| Complexe                 | pH   | Tampon    | $k_{\text{ex}}(\text{R,R})$<br>$\cdot 10^4 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ | $k_{\text{ex}}(\text{S,S})$<br>$\cdot 10^4 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ | $k(\text{R,R})/k(\text{S,S})$ |
|--------------------------|------|-----------|-------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|
| $[\text{Fe(II)glymp}]^a$ | 6.85 | Phosphate | $5.24 \pm 0.2$                                                          |                                                                         | ---                           |
| $[\text{Fe(II)alamp}]$   | 7.00 | Phosphate | $4.1 \pm 0.2$                                                           | $2.4 \pm 0.2$                                                           | 1.70                          |
|                          | 7.00 | Imidazole | $4.0 \pm 0.2$                                                           | $2.2 \pm 0.2$                                                           | 1.82                          |
|                          | 6.15 | Phosphate | $3.6 \pm 0.2$                                                           | $2.2 \pm 0.2$                                                           | 1.64                          |
|                          | 5.00 | Acétate   | $3.5 \pm 0.2$                                                           | $1.8 \pm 0.2$                                                           | 1.94                          |
| $[\text{Fe(II)promp}]$   | 6.96 | Phosphate | $1.3 \pm 0.2$                                                           | $1.8 \pm 0.2$                                                           | 0.76                          |
|                          | 7.00 | Phosphate | $1.2 \pm 0.1$                                                           | $1.7 \pm 0.2$                                                           | 0.74                          |
| $[\text{Fe(II)valmp}]$   | 7.00 | Phosphate | $1.4 \pm 0.1$                                                           | $1.2 \pm 0.1$                                                           | 1.14                          |

a : Constante de vitesse du deuxième ordre obtenue lors de la détermination des paramètres d'activation.

### 5.2.6. Discussion

Toutes les réactions décrites ci-dessus présentent une stéréosélectivité importante. Les complexes énantiomères de chaque ligand ne réagissent pas à la même vitesse et le rapport de ces vitesses est considéré comme une mesure de la stéréosélectivité (cf. Tableau 5.1 et Fig. 56, 57 et 58).

Une observation importante est l'inversion de la stéréosélectivité pour le système Fe(II)pomp par rapport aux deux autres complexes de Fe(II). En effet, avec le ligand alamp et valmp, ce sont les énantiomères ayant la configuration absolue  $\Delta$ -(R,R) qui réagissent le plus rapidement. Par contre, pour pomp, c'est l'énantiomère  $\Lambda$ -(S,S) qui présente la constante de vitesse la plus grande. Les constantes de vitesse du deuxième ordre diminuent dans l'ordre



Une telle diminution de vitesse va de paire avec l'augmentation de la taille des substituants sur le ligand. Afin d'expliquer cette série, le modèle de clef-serrure peut être appliqué. Le complexe avec alamp présenterait le moins d'interactions avec la protéine et s'adapterait le mieux au site de TE, rendant de ce fait la réaction plus rapide. Selon cette hypothèse, ce serait surtout les interactions stériques ou de Van der Waals plutôt que la distance qui influenceraient la réactivité des complexes utilisés.

La relation linéaire  $k_{\text{obs}} = f([\text{Fe(II)L}])$  observée pour toutes les réactions étudiées ne permet pas de confirmer le mécanisme postulé au paragraphe 5.1., dans lequel une association a lieu avant le TE. Une telle association se traduit par le fait que la vitesse de réaction n'est plus proportionnelle à la concentration du complexe. Puisque aucune saturation n'est observée avec les complexes étudiés, cette constante K doit être faible. Dans le cas d'alamp, le fait de changer de tampon n'a pas une influence très marquée,

comme l'indique la Fig. 56. Les vitesses de réaction sont identiques dans les deux milieux phosphate et imidazole. La stéréosélectivité est conservée, quel que soit le tampon.

L'influence du pH sur la réduction de  $\text{PCu(II)}$  par  $\text{Fe(II)alamp}$  n'est pas très importante. Une légère diminution de la constante de vitesse du deuxième ordre est cependant observée lorsque le pH diminue, mais n'est pas comparable au switch off observé pour la réduction de  $\text{PCu(II)}$  par  $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_5(\text{py})]^{2+}$  [92].

Les données cristallographiques [11] et les mesures effectuées par Gross [8] indiquent que la forme oxydée de la plastocyanine est moins sensible aux influences du pH que la forme réduite.

Dans les limites d'erreur considérées, la stéréosélectivité, mesurée par le rapport de vitesses  $k_{\Delta}/k_{\Lambda}$ , ne change pas en fonction du pH.

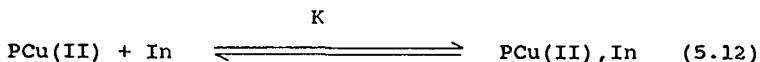
5.3. Influence des complexes inhibiteurs  $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]\text{Cl}_3$  et  $[\text{Co}(\text{NH}_3)_5\text{NH}_2\text{Co}(\text{NH}_3)_5]\text{Br}_5$  sur la réduction de PCu(II) par  $[\text{Fe}(\text{II})\text{alamp}]$

Une explication possible de la stéréosélectivité observée et décrite dans ce travail pourrait être une répartition différente des deux énantiomères entre plusieurs sites réactifs de la protéine.

Il est donc important de pouvoir identifier le ou les sites sur lesquels le TE a lieu. Pour la plastocyanine de l'épinard, deux endroits sur lesquels l'électron est transféré sont généralement reconnus: un site hydrophobe proche de His 87 et le "negatif patch", région contenant une densité élevée de restes carboxylates déprotonés et entourant Tyr 83 (cf. chapitre 1).

Des réactions d'inhibition effectuées pour l'oxydation de PCu(I) par des dérivés du ferrocène [33], ont montré que le TE peut avoir lieu sur les deux sites possibles à la surface de la protéine, le complexe rédox actif pouvant s'associer sur ces deux endroits simultanément.

Un moyen fréquemment utilisé pour résoudre ce problème est de procéder à des réactions de compétition avec des complexes inorganiques inactifs du point de vue rédox, mais pouvant s'associer de manière spécifique et très forte sur un seul de deux sites. Généralement, de tels complexes, comme  $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ ,  $[\text{Co}(\text{NH}_3)_5\text{NH}_2\text{Co}(\text{NH}_3)_5]^{5+}$  ou  $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_6]^{4+}$  présentent une densité de charge élevée et leurs constantes d'association avec la protéine sont élevées ( $K = (470 \pm 20) \text{ M}^{-1}$ ,  $K = (1.6 \pm 0.2) \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$  et  $K = 4.2 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$  respectivement). La constante d'association  $K$  est définie par



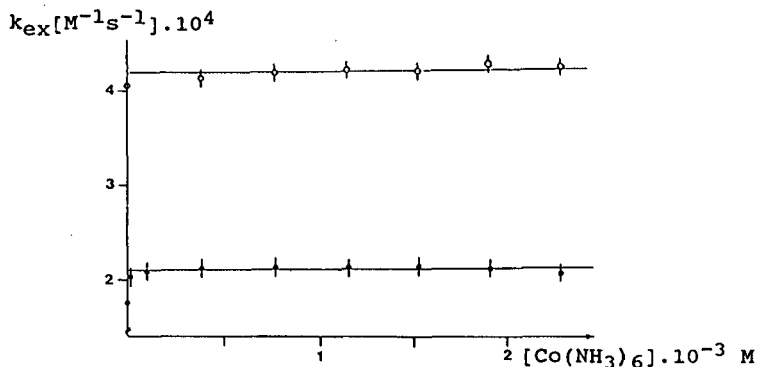
Des mesures RMN ont montré que ces trois complexes interagissent spécifiquement vers le "négatif patch".

### 5.3.1. Préparation des solutions

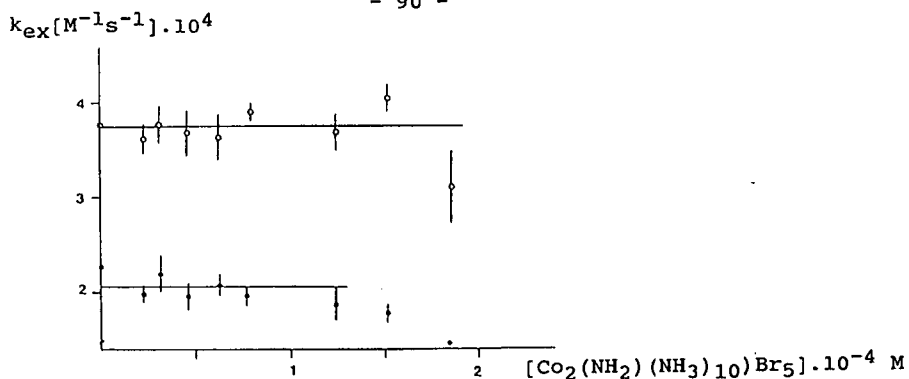
La synthèse et la caractérisation des deux complexes utilisés  $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$  et  $[(\text{NH}_3)_5\text{CoNH}_2\text{Co}(\text{NH}_3)_5]^{5+}$  sont décrites au chapitre 2.

La solution de complexe et de protéine sont préparées de manière analogue à la procédure donnée au paragraphe 5.2.1. Une solution  $7.10^{-3}$  M de complexe inhibiteur est préparée par dissolution dans de l'eau bidistillée (dans le tampon phosphate, un précipité se forme). Les solutions de concentrations variables en inhibiteur sont préparées en pipetant 10 ml de la solution de  $[\text{Fe(II)alamp}]$  dans un ballon jaugé de 25 ml et en y ajoutant des volumes croissants d'inhibiteur. Le tout est amené au trait de jauge avec le tampon phosphate pH = 7.0. Toutes les solutions sont conservées sous azote durant la mesure.

Les conditions de mesure ainsi que les valeurs de  $k_{\text{obs}}$  obtenues sont réunies dans l'annexe 1 et la représentation graphique  $k_{\text{obs}} = f([\text{Inhibiteur}])$  pour les deux complexes inhibiteurs utilisés est donnée dans les Fig. 59 et 60.



**Fig. 59** Influence de la concentration d'inhibiteur  $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$  sur la vitesse de réduction de  $\text{PCu(II)}$  par  
 o  $[\text{Fe(II)}(\text{R,R})\text{alamp}]$   
 ●  $[\text{Fe(II)}(\text{S,S})\text{alamp}]$   
 $[\text{PCu(II)}] = 1.5.10^{-5}$  M  $T = 25^\circ\text{C}$   $\mu = 0.1$   $\text{pH} = 7.05$



**Fig. 60** Influence de la concentration d'inhibiteur  $[\text{Co}_2(\text{NH}_2)(\text{NH}_3)_{10}]^{5+}$  sur la vitesse de réduction de PCu(II) par

- o [Fe(II)(R,R)-alamp]
- [Fe(II)(S,S)-alamp]

Conditions identiques qu'à la Fig. 59.

### 5.3.2 Discussion

Comme le montre bien les Fig. 59 et 60, les deux complexes inhibiteurs  $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$  et  $[(\text{NH}_3)_5\text{CoNH}_2\text{Co}(\text{NH}_3)_5]^{5+}$  n'ont qu'une très faible influence sur la vitesse de réduction de PCu(II) par [Fe(II)alamp]. Les valeurs moyennes des constantes de vitesse pour chaque énantiomère sont indiquées dans le tableau 5.2. ainsi que la sélectivité.

**Tableau 5.2** Constantes bimoléculaires de la réduction de PCu(II) par [Fe(II)alamp] en présence de  $[(\text{NH}_3)_5\text{Co}(\text{NH}_3)_5]\text{Br}_5$  et de  $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]\text{Cl}_3$  pH = 7.05  $\mu$  = 0.1

| Inhibiteur                                        | [Fe(II)(R,R)alamp]<br>$k_{\text{ex}} [\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}]$ | [Fe(II)(S,S)alamp]<br>$k_{\text{ex}} [\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}]$ | $k_{\Delta}/k_{\Lambda}$ |
|---------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|--------------------------|
| $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$                 | $(4.19 \pm 0.1) \cdot 10^4$                                        | $(2.11 \pm 0.1) \cdot 10^4$                                        | 1.98                     |
| $[\text{Co}_2(\text{NH}_3)_{10}\text{NH}_2]^{5+}$ | $(3.73 \pm 0.2) \cdot 10^4$                                        | $(2.06 \pm 0.2) \cdot 10^4$                                        | 1.80                     |

Comme les deux complexes inhibiteurs interviennent de manière sélective sur le "négatif patch" et qu'ils ne provoquent aucune diminution de la vitesse de réaction pour le système avec  $[\text{Fe(II)alamp}]$  comme réducteur, il s'ensuit que ce dernier utilise le site proche de His 87 pour effectuer le TE.

Le fait que la stéréosélectivité soit conservée lors de cette expérience indique que les deux énantiomères réagissent sur le même site. Le choix de l'un des deux sites de TE semble être régi principalement par deux facteurs:

- Facteurs électrostatiques: les complexes cationiques se fixent préférentiellement sur le "négatif patch", alors que les complexes anioniques utilisent plutôt le site proche de His-87.

- La polarité du ligand: la région autour de His-87 est hydrophobe, alors que le "négatif patch" est très polaire.

En considérant ces deux facteurs, le choix du site de réaction pour les complexes utilisés n'est pas surprenant, ces derniers étant non chargés, donc peu soumis à l'influence du "négatif patch", et les restes méthyles, isopropyles ou pyrrolidinyles étant passablement hydrophobes, ils favorisent de ce fait le site proche de His 87.

#### 5.4. Détermination des paramètres d'activation pour la réduction de PCu(II) par les complexes de fer(II) optiquement actifs

La stéréosélectivité décrite précédemment doit être le résultat d'une différenciation énergétique lors de la formation d'un complexe précurseur ou lors de la formation d'un état de transition diastéréoisomère précédant le TE proprement dit. Afin de caractériser le mieux possible les différents chemins réactionnels possibles, la détermination des paramètres d'activation s'avère être importante.

Les équations d'Arrhénius (5.13) et de Eyring (5.15) permettent de relier la vitesse d'une réaction aux paramètres énergétiques comme l'enthalpie d'activation  $\Delta H^\ddagger$  et l'entropie d'activation  $\Delta S^\ddagger$ :

$$k_{ex} = A \cdot \exp(-E_{act}/RT) \quad (5.13)$$

$$\ln(k_{ex}) = \ln A - E_{act}/RT \quad (5.14)$$

$$k_{et} = (kT/h) \cdot \exp(\Delta S^\ddagger/R) \cdot \exp(-\Delta H^\ddagger/RT) \quad (5.15)$$

$$\ln(k_{et}) = \ln(kT/h) + \Delta S^\ddagger/R - \Delta H^\ddagger/RT \quad (5.16)$$

Les deux paramètres  $\Delta H^\ddagger$  et  $\Delta S^\ddagger$  sont reliés à l'énergie d'activation  $E_{act}$  et au facteur de collision A selon les relations

$$\Delta H^\ddagger = E_{act} - RT \quad (5.17)$$

$$\Delta S^\ddagger = R \cdot \ln(A/(kT \cdot 2,718/h)) \quad (5.18)$$

k = constante de Boltzmann

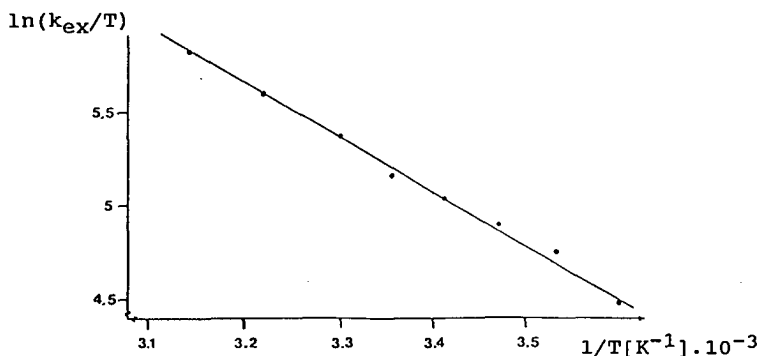
h = constante de Planck

R = constante des gaz parfaits

Selon l'équation (5.15), une représentation de  $\ln(k_{ex}/T)$  = f(1/T) donne une droite de pente  $-\Delta H^\ddagger/R$  et dont l'ordonnée à l'origine vaut  $\ln(k/h) + \Delta S^\ddagger/R$ .

#### 5.4.1. Système [Fe(II)(glymp)]

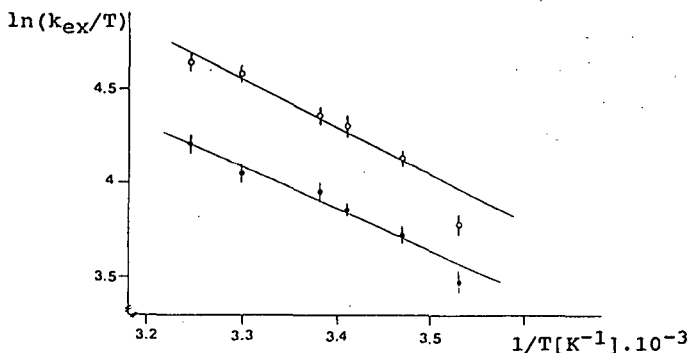
Les mesures effectuées avec ce ligand sont quelque peu différentes de celles pour les autres ligands. La solution de complexe a été préparée en dissolvant la quantité de sel de Mohr nécessaire pour une concentration en Fe(II) voisine de  $2.10^{-3}$  M dans une solution de glymp  $2.3.10^{-3}$  M. La concentration de cette dernière a été déterminée par titration spectrophotométrique avec une solution standard de sulfate de cuivre et par titration acidimétrique. Afin de tamponner le milieu réactionnel à un pH de 6.85, la solution de PCu(II) a été préparée en diluant la protéine concentrée dans un tampon phosphate dont la force ionique est de 0.2 (le double de celle à laquelle les autres mesures ont été effectuées). Les solutions sont conservées sous azote pendant toute la durée des mesures. La vitesse de réaction, déterminée pour huit températures allant de 5°C à 45°C, est mesurée comme décrit au paragraphe 5.2.1. Les valeurs obtenues sont données dans l'annexe 2. Les constantes de vitesse du deuxième ordre  $k_{ex}$  sont calculées en divisant  $k_{obs}$  par les concentrations en complexes dans la cuve de mesure, déterminées au moyen des constantes de stabilités données au chapitre 4. La représentation de Eyring,  $\ln(k_{ex}/T) = f(1/T)$ , donne bien une droite (Fig. 61), à partir de laquelle les paramètres d'activation présentés dans le tableau 5.3 sont calculés.



**Fig. 61** Représentation de Eyring pour le système  $Fe^{2+}$ :glymp.  
 $[Fe]_0 = 1.9.10^{-3}$  M     $[glymp]_0 = 2.3.10^{-3}$  M  
 Tampon phosphate pH = 6.85     $\mu = 0.1$

#### 5.4.2. Système [Fe(II)(alamp)]

Les paramètres d'activation pour ce système ont été déterminés en mesurant la vitesse de réduction d'une solution de PCu(II)  $1.10^{-5}$  M par Fe(II)alamp  $1.4.10^{-3}$  M en fonction de la température. Le domaine étudié est compris entre 10°C et 35°C. Les solutions de protéine ainsi que celles du complexe sont préparées de manière analogue à celles décrites dans le paragraphe 5.2. Les mesures également sont effectuées dans des conditions identiques à celles données au paragraphe 5.2. Les constantes de vitesse observées ainsi que celles du deuxième ordre sont données dans l'annexe 2. Trois séries de mesures indépendantes sont effectuées; la représentation de Eyring pour l'une de ces série est donnée ci-dessous (Fig. 62). Les paramètres d'activation déterminés au moyen de la relation (5.16) sont réunis dans le tableau 5.3.



**Fig. 62** Représentation de Eyring pour le système  $Fe^{2+}$ :alamp.

$[Fe]_0 = 2.9.10^{-3}$  M     $[alamp]_0 = 3.7.10^{-3}$  M

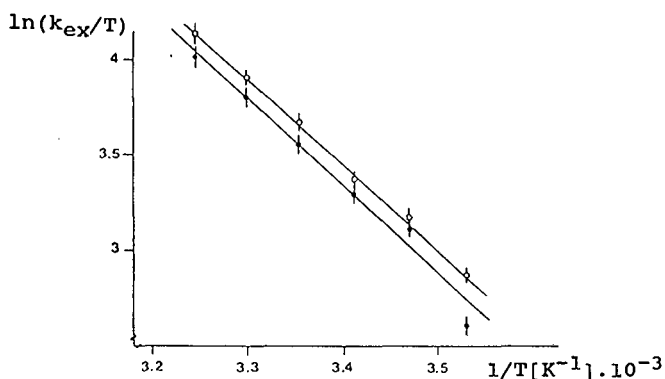
Tampon phosphate    pH=7.02     $\mu=0.1$

○ (R,R)-alamp

● (S,S)-alamp

#### 5.4.3. Système [Fe(II)(valmp)]

Pour ce système également, les conditions de mesure sont analogues à celles décrites dans le paragraphe 5.3.2. Les valeurs expérimentales sont données dans l'annexe 2; la représentation de Eyring ainsi que les paramètres d'activation calculés sont donnés dans la Fig. 63 et dans le tableau 5.3 respectivement.



**Fig. 63** Représentation de Eyring pour le système  $Fe^{2+}:valmp$ .

$[Fe]_0 = 2.7 \cdot 10^{-3}$  M     $[valmp]_0 = 3.1 \cdot 10^{-3}$  M

Tampon phosphate    pH=7.0     $\mu=0.1$

○ (R,R)-valmp

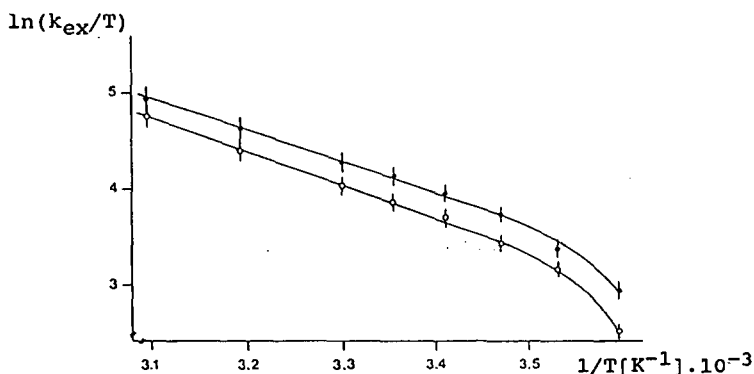
● (S,S)-valmp

#### 5.4.4. Système [Fe(II)(promp)]

Pour ce système, le domaine de température étudié est un peu plus étendu, allant de 5°C à 50°C. La protéine est relativement stable vis à vis de la température; une incubation de cinq minutes à 45°C n'ammène aucun changement dans le spectre UV-VIS et aucune disparition de couleur ou dénaturation n'a été observée pour une température aussi élevée que 60°C [93]. Les conditions de mesure ainsi que les valeurs des constantes de vitesse obtenues sont réunies dans l'annexe 2. La représentation de Eyring ainsi que les paramètres

d'activation calculés à partir de cette dernière sont donnés dans la Fig. 64 et dans le tableau 5.3 respectivement. La représentation de Eyring présente une déviation importante de la linéarité pour les températures inférieures à  $T = 15^{\circ}\text{C}$ . Les valeurs données dans le tableau 5.3. sont calculées sur la partie linéaire de ce graphe.

Une observation similaires a été faite pour la réduction de  $\text{PCu(II)}$  par  $[\text{Fe(CN)}_6]^{4-}$  dans une solution d'eau : méthanol 50 : 50 pour des températures inférieures à  $0^{\circ}\text{C}$  [94]. Le phénomène a été attribué à un changement de vitesse pour l'étape déterminante de la réaction, dû à une réorganisation du complexe précurseur ainsi qu'à une forte désolvatation.



**Fig. 64** Représentation de Eyring pour le système  $\text{Fe}^{2+}$ :promp.

$[\text{Fe}]_0 = 1.9 \cdot 10^{-3} \text{ M}$      $[\text{promp}]_0 = 2.4 \cdot 10^{-3} \text{ M}$

Tampon phosphate     $\text{pH}=6.95$      $\mu=0.1$

○ (R,R)-promp

● (S,S)-promp

Tableau 5.3 Constantes de vitesse du deuxième ordre et paramètres d'activation pour la réduction de PCu(II) par différents complexes de fer(II).

| Complexe    | pH <sup>a</sup> | k <sub>ex</sub><br>·10 <sup>4</sup> [M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> ]<br>(R,R) (S,S) | ΔH <sup>#</sup><br>[kJ/mole]<br>(R,R) (S,S) | ΔH <sup>#</sup><br>[kJ/mole]<br>(R,R) - (S,S) | ΔS <sup>#</sup><br>[J/mole.K]<br>(R,R) (S,S) | T ΔΔS <sup>#</sup><br>[kJ/mole]<br>(R,R) - (S,S) | ΔΔG <sup>#</sup><br>[kJ/mole]<br>(R,R) - (S,S) |
|-------------|-----------------|---------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|-----------------------------------------------|----------------------------------------------|--------------------------------------------------|------------------------------------------------|
| [Fe(glymp)] | 6.85            | 5.24                                                                                  | 23.8±2                                      | ---                                           | -75±15                                       | ---                                              | ---                                            |
| [Fe(alamp)] | 7.00            | 4.1 2.4                                                                               | 18.1±1 15.1±1                               | +3.0                                          | -94±4 -109±8                                 | +4.47                                            | -1.47±0.15                                     |
| [Fe(promp)] | 7.00            | 1.2 1.7                                                                               | 29.1±1.2 26.1±1                             | +3.0                                          | -68±6 - 75±6                                 | +2.08                                            | +0.71±0.50                                     |
| [Fe(valmp)] | 6.95            | 1.4 1.2                                                                               | 37.1±2 36.0±2                               | +1.1                                          | -42±4 - 47±4                                 | +1.50                                            | -0.40±0.38                                     |

a : Tampon phosphate μ = 0.1

#### 5.4.5. Discussion

A partir des résultats réunis dans le tableau 5.2, les remarques suivantes peuvent être faites:

a) L'enthalpie d'activation pour le TE entre PCu(II) et les complexes [Fe(glymp)], [Fe(alamp)], [Fe(valmp)] et [Fe(promp)] dépend fortement de la nature des substituants sur le carbone asymétrique du ligand.  $\Delta H^\ddagger$  est environ deux fois plus élevée pour [Fe(valmp)] que pour [Fe(alamp)]. De même, l'entropie d'activation pour ce dernier complexe est environ le double de celle pour [Fe(valmp)].

Ces observations peuvent être expliquées de la manière suivante: les complexes doivent s'approcher de la surface de la protéine jusqu'à une distance critique, à partir de laquelle le TE aura lieu. Pour le complexe possédant les substituants les plus volumineux ([Fe(valmp)] dans ce cas), les interactions entre les restes hydrophobes du site proche de His-87, lieu où la réaction de TE a probablement lieu (cf. paragraphe 5.3), et les restes isopropyles du ligand seront plus importantes que si les restes méthyles sont impliqués. Ceci se traduit par une augmentation de l'enthalpie d'activation en passant de alamp à valmp.

D'autre part, plus le réactif a d'interactions avec la surface protéinique, plus la desolvatation deviendra importante. Ceci se traduit par une entropie d'activation moins négative. Cette vue est en accord avec l'étude de Gray concernant la réaction de TE entre PCu(II) et le cytochrome c<sub>551</sub> [31]. Dans ce cas, le TE est caractérisé par une enthalpie d'activation élevée et une entropie d'activation positive, indiquant que les deux sites réactifs sont proches l'un de l'autre (interaction forte et désolvatation importante). Lorsque le complexe [Fe(II)edta] est utilisé à la place du cytochrome c<sub>551</sub>, l'enthalpie d'activation est très faible et l'entropie d'activation devient fortement négative. Ce résultat a été interprété en admettant une plus longue distance pour le transfert d'électron que lorsque celui-ci a lieu entre les deux protéines.

b) Pour les trois paires d'énantiomères de [Fe(alamp)], [Fe(promp)] et [Fe(valmp)], on mesure toujours une enthalpie d'activation plus élevée pour l'énantiomère ayant la configuration  $\Delta$ -R,R. Pour ce même isomère, la valeur de l'entropie d'activation est toujours moins négative que celle obtenue pour son image miroir  $\Lambda$ -S,S. Concernant la vitesse de réaction, les mesures montrent que l'énantiomère  $\Delta$ -R,R réagit plus rapidement dans le cas des complexes [Fe(alamp)] et [Fe(valmp)], alors que pour le complexe [Fe(promp)], c'est l'isomère  $\Lambda$ -S,S qui réduit PCu(II) le plus rapidement. Afin d'expliquer la différence de comportement cinétique du système [Fe(promp)] par rapport aux autres complexes étudiés, il est nécessaire de considérer les facteurs énergétiques, en particulier l'énergie libre d'activation  $\Delta G^\ddagger$ . Cette énergie se compose des deux termes  $\Delta H^\ddagger$  et  $\Delta S^\ddagger$  selon la relation

$$\Delta G^\ddagger = \Delta H^\ddagger - T \cdot \Delta S^\ddagger \quad (5.19)$$

Lorsque l'on calcule l'énergie libre d'activation pour la réduction de PCu(II) par chaque énantiomère, l'isomère réagissant plus rapidement a un  $\Delta G^\ddagger$  plus faible que son image miroir. Pour  $\Delta$ -[Fe(R,R)alamp] et  $\Delta$ -[Fe(R,R)valmp)], la contribution enthalpique à  $\Delta G^\ddagger$  est élevée et donc défavorable par rapport à celle de l'énantiomère  $\Lambda$ -S,S. La stéréosélectivité observée en faveur de la forme  $\Delta$ -R,R, est due au fait que la contribution de l'entropie d'activation à  $\Delta G^\ddagger$  est plus élevée pour cet isomère que pour  $\Lambda$ -S,S. L'entropie d'activation compense la contribution défavorable de  $\Delta H^\ddagger$ .

La stéréosélectivité étant une mesure relative, il convient pour en discuter d'utiliser les différences entre les paramètres énergétiques  $\Delta\Delta H^\ddagger = \Delta H^\ddagger_{R,R} - \Delta H^\ddagger_{S,S}$  et  $\Delta\Delta S^\ddagger = \Delta S^\ddagger_{R,R} - \Delta S^\ddagger_{S,S}$ . Ainsi, la différence d'énergie libre d'activation sera définie par

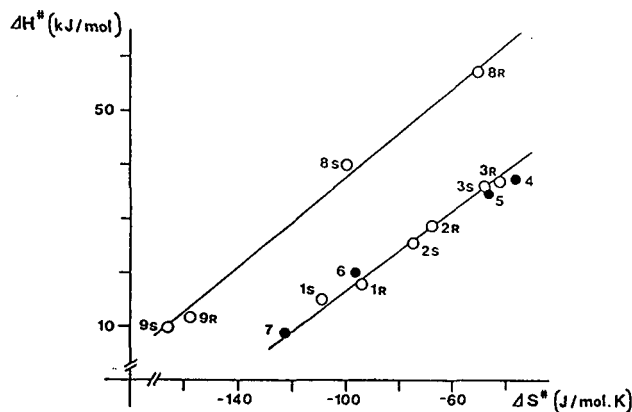
$$\Delta\Delta G^\ddagger = \Delta\Delta H^\ddagger - T \cdot \Delta\Delta S^\ddagger \quad (5.20)$$

Toutes les valeurs de  $\Delta\Delta G^\ddagger$ ,  $\Delta\Delta H^\ddagger$  et  $\Delta\Delta S^\ddagger$  sont définies comme étant les valeurs de l'isomère  $\Delta$ -R,R moins celle de l'isomère  $\Delta$ -S,S. Il est convenu que toutes les discussions concernant des différences dans les paramètres d'activation se feront sur cette base.

Les différences  $\Delta\Delta H^\ddagger$  et  $\Delta\Delta S^\ddagger$ , données au tableau 5.2., sont toujours positives pour tous les systèmes étudiés. Par contre, le signe de  $\Delta\Delta G^\ddagger$  pour [Fe(promp)] est inversé par rapport à celui des autres complexes. Cette inversion de signe est corrélée avec l'inversion de la stéréosélectivité et est due à une contribution relative plus importante de la différence d'enthalpie d'activation à  $\Delta\Delta G^\ddagger$ . Lorsqu'un comportement compensatoire est observé entre  $\Delta\Delta H^\ddagger$  et  $\Delta\Delta S^\ddagger$ , le signe de  $\Delta\Delta G^\ddagger$  va dépendre des valeurs relatives de chaque paramètre et la sélectivité qui résultera va dépendre du signe de  $\Delta\Delta G^\ddagger$ .

La reconnaissance chirale, définie comme étant la configuration du réactif qui s'imbrique le mieux sur le site de réaction de la protéine, est la même pour tous les complexes optiquement actifs synthétisés dans ce travail et est en faveur de la forme  $\Delta$ -R,R. C'est pour cette configuration absolue que les  $\Delta H^\ddagger$  sont les plus élevés et que les entropies d'activation sont les moins négatives, indiquant une plus grande interaction avec le site réactif de la protéine. Pour les deux systèmes [Fe(alamp)] et [Fe(valmp)], la stéréosélectivité, définie par le rapport des constantes de vitesse  $k_\Delta/k_\Lambda$ , est en faveur de l'isomère  $\Delta$ -R,R. Dans ce cas, la reconnaissance chirale et la sélectivité sont identiques. Pour [Fe(promp)] par contre, la reconnaissance chirale est en faveur de  $\Delta$ -R,R, mais c'est l'énantiomère  $\Delta$ -S,S qui réagit le plus vite. Comme le montre cet exemple, il est nécessaire de faire une distinction entre la stéréosélectivité et la reconnaissance chirale. Cette dernière notion se rapporte à un phénomène microscopique et doit être discuté au niveau moléculaire, alors que la stéréosélectivité est un phénomène macroscopique et résulte des propriétés globales du système.

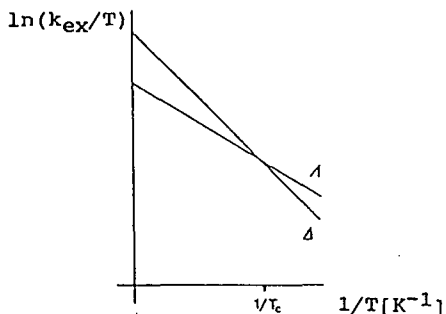
c) La notion de compensation discutée plus haut est également observée lorsque l'on représente  $\Delta H^\ddagger$  en fonction de  $\Delta S^\ddagger$ . Cette représentation (cf. Fig. 65) permet de constater que plus les valeurs d'enthalpie d'activation sont élevées, plus les valeurs de l'entropie d'activation augmentent. Cette propriété a été observée pour de nombreuses réactions de TE impliquant des métalloprotéines ou des complexes inorganiques, de charge ou de nature chimique différente [95].



**Fig. 65** Représentation isocinétique pour la réduction de PCu(II) par différents complexes de fer(II) et de cobalt(II). Le cas du cobalt(II) est discuté dans le chapitre 6.

- |                                                        |                                                 |
|--------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| 1. [Fe(alamp)]                                         | 6. [Fe(dipic) <sub>2</sub> ] <sup>2-</sup> [32] |
| 2. [Fe(promp)]                                         | 7. [Fe(edta)] <sup>2-</sup> [30]                |
| 3. [Fe(valmp)]                                         | 8. [Co(alamp)]-tampon phosphate                 |
| 4. [Fe(CN) <sub>6</sub> ] <sup>4-</sup> [26]           | 9. [Co(alamp)]-tampon imidazole                 |
| 5. [Fe(CN) <sub>6</sub> ] <sup>4-</sup> (haricot) [26] |                                                 |

La relation (5.19) indique que  $\Delta G^\ddagger$  est une fonction de la température. Comme la stéréosélectivité dépend du signe de  $\Delta\Delta G^\ddagger$ , la température va influencer le rapport  $k_\Delta/k_\Lambda$ . La Fig. 66 schématise la représentation de Eyring pour le cas de [Fe(promp)] par exemple. Ce graphe montre clairement qu'il existe une température particulière  $T_C$ , à partir de laquelle la stéréosélectivité est inversée.



**Fig. 66** Cas général pour la représentation de Eyring pour deux complexes énantiomères présentant un  $\Delta H^\ddagger$  et un  $\Delta S^\ddagger$  différent. A partir d'une certaine température  $T_C$ , le rapport  $k_\Delta/k_\Lambda$  est inversé.

Le signe de la stéréosélectivité dépendra de la température à laquelle la cinétique est mesurée. Par exemple, ce phénomène est très prononcé pour l'oxydation de la ferredoxine de l'épinard par  $[Co(alamp)py]^+$  [87]. Dans ce cas, le point d'intersection des deux droites correspond à une température  $T_C = 37^\circ C$ ; aucune sélectivité n'est observée à cette température alors qu'à  $0^\circ C$ , l'isomère  $\Delta$ -R,R réagit plus vite que l'isomère  $\Lambda$ -S,S. Si la mesure est effectuée à une température supérieure à  $37^\circ C$ , la stéréosélectivité doit être en faveur de l'isomère  $\Lambda$ .

## Chapitre 6

### Réactions de transfert d'électron entre la plastocyanine et des complexes optiquement actifs de cobalt(II)

Dans le chapitre précédent, une hypothèse concernant les paramètres influants sur la sélectivité lors de la réduction de PCu(II) par les complexes optiquement actifs de fer(II) a été présentée. Il nous a semblé intéressant d'étudier l'effet du centre métallique sur la réactivité et notre choix s'est porté sur le cobalt. Ce choix n'est pas complètement arbitraire car ce métal forme généralement des complexes plus stables avec l'azote que le fer. Une éventuelle coordination sur l'azote N<sup>6</sup> du reste imidazole de His-87, dont on sait qu'il est impliqué dans le TE entre PCu(II) et [Fe(alamp)], pourrait être ainsi plus facilement mise en évidence. Il serait ainsi possible de différencier entre un mécanisme de TE sphère interne ou externe.

#### 6.1.1 Influence de la concentration de [Co(alamp)] sur la cinétique de réduction de PCu(II) dans un tampon phosphate.

Afin de pouvoir étudier cette réaction dans des conditions bien déterminées, il s'est avéré que l'oxygène dissout doit être absent du système. En effet, lorsqu'aucune précaution est prise lors de la préparation des solutions de [Co(alamp)], la couleur de cette dernière est jaune très intense. En dégazant le système au moyen d'azote, l'intensité de la couleur jaune diminue et finalement, la solution devient rose très pâle. Cette décoloration est réversible car en laissant la solution rose pâle en présence d'air, elle redevient jaune; le dégazage au moyen d'azote permet de nouveau d'obtenir une solution pratiquement incolore. Ce phénomène a été attribué à la formation d'un complexe oxygéné de [Co(alamp)] (jaune) [96]. L'espèce présentant la couleur

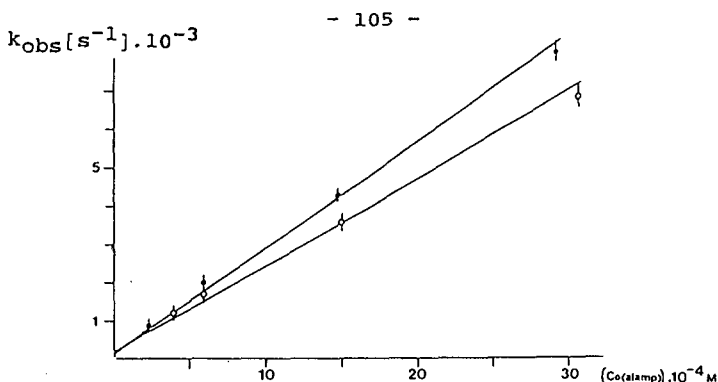
rose pâle correspondrait à  $[\text{Co}(\text{alamp})\text{H}_2\text{O}]$ .

La réaction



bien que très lente, a été étudiée au moyen d'un spectrophotomètre stopped-flow. Une mesure typique est effectuée de la manière suivante: la quantité de  $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  p.a. et de ligand (R,R) ou (S,S) alamp pour préparer une solution de concentration  $[\text{Co(II)}]_0 = 5.9 \cdot 10^{-3} \text{ M}$  et  $[\text{alamp}]_0 = 6.4 \cdot 10^{-3} \text{ M}$  sont pesés dans un ballon jaugé de 50 ml. Un tampon phosphate,  $\text{pH} = 7.00$ ,  $\mu = 0.11$  (cf. paragraphe 5.2) préalablement dégazé et purgé à l'azote est utilisé pour dissoudre ou diluer les solutions de complexe et de protéine. Le pH de la solution de complexe est ajusté si nécessaire au moyen de quelques gouttes de NaOH concentré. La solution de protéine est préparée par dilution d'une solution concentrée,  $A_{276}/A_{579} = 1.24$ , pour avoir une concentration finale  $[\text{PCu(II)}]_0 = 3 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ .

Avant chaque mesure de cinétique, la solution de complexe est purgée avec de l'azote jusqu'à ce que la couleur jaune ait disparu. Les conditions de mesure et d'acquisition des données sont analogues à celles décrites au paragraphe 5.2. Les cinétiques sont traitées au moyen du programme K-LIGNE [97] et les constantes de vitesse moyennes, obtenues à partir de trois injections, sont données dans l'annexe 3. Deux mesures indépendantes ont été effectuées pour chaque système et les constantes de vitesse du deuxième ordre sont réunies dans le tableau 6.1. La Fig. 67 représente la dépendance de la constante de vitesse observée en fonction de la concentration en complexe, déterminée en utilisant les constantes de stabilité données au tableau 4.1.

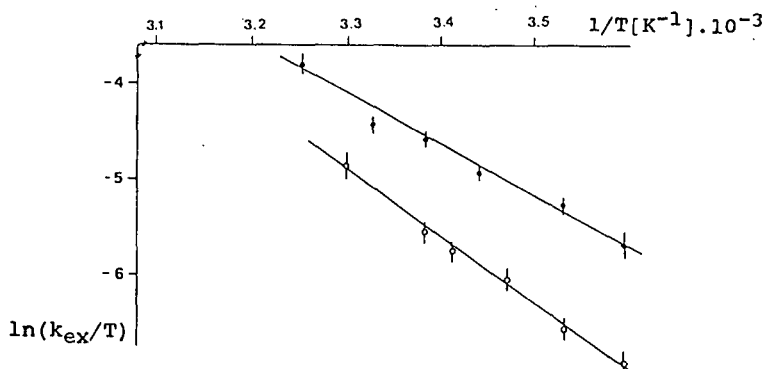


**Fig. 67** Représentation  $k_{\text{obs}} = f([\text{Co(alamp)}])$  pour le système  $\text{Co}^{2+}:\text{alamp}:\text{tampon phosphate}$ .  $\text{pH}=7.03$   $\mu=0.1$   
 $T=25^\circ\text{C}$

- (R,R)-alamp
- (S,S)-alamp

#### 6.1.2. Détermination des paramètres d'activation pour le système $[\text{Co(alamp)}]$ - tampon phosphate.

Pour la détermination des paramètres d'activation de la réduction de  $\text{PCu(II)}$  par  $[\text{Co(alamp)}]$  dans le tampon phosphate, une procédure analogue à celle décrite au paragraphe 5.2. a été utilisée. Les solutions de complexe sont préparées afin d'avoir une concentration initiale en cobalt(II) voisine de  $2,6 \cdot 10^{-3} \text{ M}$  et un excès en ligand d'environ 1,4 fois. La protéine, ayant une pureté donnée par le rapport  $A_{276}/A_{597} = 1.24$ , est préparée en diluant une solution concentrée pour obtenir une concentration voisine de  $[\text{PCu(II)}]_0 = 4,5 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ . Le domaine de température étudié va de  $5^\circ\text{C}$  à  $30^\circ\text{C}$ . Les résultats obtenus par traitement des données cinétiques au moyen du programme K-LIGNE sont reproduites dans l'annexe 3. La représentation de Eyring pour cette série de mesure est donnée à la Fig. 68, et les valeurs des paramètres d'activation obtenues sont données dans le tableau 6.1.



**Fig. 68** Représentation de Eyring pour le système  $Co^{2+}$ :alamp: tampon phosphate. pH=6.98  $\mu=0.1$   $[Co]_0=2.5 \cdot 10^{-3}$  M  $[alamp]_0=3.6 \cdot 10^{-3}$  M  
 o (R,R)-alamp  
 • (S,S)-alamp

### 6.1.3. Discussion

Le tableau 6.1. résume les différentes valeurs obtenues pour la réduction de  $PCu(II)$  par le système  $[Co(alamp)]$  dans un tampon phosphate pH =  $7.0 \pm 0.03$   $\mu = 0.11$ .

Dans ce tableau, nous indiquons comme espèce réactive  $[Co(alamp)H_2O]$ . Bien que le phosphate utilisé pour tamponner le milieu soit en grande concentration, la coordination de l'ion hydrogénophosphate sur la sixième position libre du complexe de cobalt(II) est très faible; la constante de stabilité pour l'équilibre  $MHL/M.HL$  où  $M = Co^{2+}$  et  $L = HPO_4^{2-}$  est de 2.18 à  $25^\circ C$   $\mu = 0.1$  [71]. Dans les conditions utilisées pour effectuer ces mesures et avec la constante de formation donnée au tableau 4.1. et ci-dessus, la formation de l'aquacomplexe est quantitative.

Tableau 6.1. Constantes de vitesse du deuxième ordre et paramètres d'activation pour la réduction de PCu(II) par [Co(alamp)] dans un tampon phosphate.

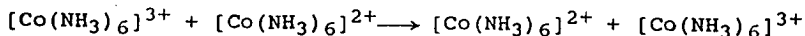
pH = 7.0 ± 0.03    μ = 0.11

|                                             | $k_{ex}^a$<br>[M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> ] | $\Delta H^\#$<br>[kJ/mole] | $\Delta S^\#$<br>[J/mole.K] | $k_a/k_\lambda$ |
|---------------------------------------------|--------------------------------------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------|
| $\Delta$ -[Co((R,R)alamp)H <sub>2</sub> O]  | 1.74 ± 0.2                                       | 57 ± 8                     | -49 ± 20                    | 0.74 ± 0.15     |
| $\Lambda$ -[Co((S,S)alamp)H <sub>2</sub> O] | 2.32 ± 0.2                                       | 40 ± 5                     | -101 ± 16                   |                 |
| a: Mesuré à 25°C                            |                                                  |                            |                             |                 |

Une seule série de mesure a été effectuée pour ce système, expliquant les erreurs élevées pour les paramètres d'activation. Dans son travail de diplôme, N. Rapillard a remesuré ces paramètres d'activation et les résultats obtenus ne correspondent pas à ceux donnés ci-dessus. Une grande prudence concernant les valeurs pour ce système est donc de mise.

Les remarques que nous pouvons pourtant faire sur le système [Co(alamp)] - tampon phosphate sont les suivantes:

a) Les propriétés cinétiques et stéréosélectives sont très fortement dépendantes de la nature du centre métallique. Lorsque ce dernier est le cobalt(II), la réaction est environ 2000 fois plus lente que pour le fer(II). Une telle diminution a également été observée lors de la détermination des vitesses d'auto-échange pour [Co(NH<sub>3</sub>)<sub>6</sub>]<sup>3+/2+</sup> comparé à celle de Fe<sup>3+/2+</sup><sub>aq</sub> ou de [Ru(NH<sub>3</sub>)<sub>6</sub>]<sup>3+/2+</sup> [98]. La lenteur de la réaction



$$k < 3.10^{-12} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$$

a été attribuée à

i) la grande différence entre les distances Co(II) - N (2.114 Å) et Co(III) - N (1.936 Å)

ii) le changement de multiplicité du spin en passant de la situation high spin  $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]^{2+}$ , structure électronique  $(t_{2g})^5(e_g)^2$  ( $^4T_{1g}$ ), à la situation low spin  $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ , de structure électronique  $(t_{2g})^6$  ( $^1A_{1g}$ ).

La contribution de l'énergie de réorganisation ( $\lambda$ , liée à i), cf. chapitre 1) à l'énergie totale d'activation pour cette réaction d'auto-échange (134 kJ/mole) a été calculée sur la base des différences de longueurs Co - N pour les deux états d'oxydation du métal et est relativement faible (28.5 kJ/mole) comparée à l'énergie associée au changement de spin (100 kJ/mole) [99], représentant la différence d'énergie entre les états  $^4T_{1g}$  et  $^1A_{1g}$ . Cette dernière contribution est suffisante pour expliquer la diminution de vitesse lors de la réaction d'auto-échange.

b) Le signe de la stéréosélectivité est inversé pour le système  $[\text{Co}(\text{alamp})]$ -tampon phosphate par rapport au système  $[\text{Fe}(\text{alamp})]$ -tampon phosphate. Le rapport des constantes de vitesse  $k_A/k_A$  est respectivement de  $0.74 \pm 0.15$  et  $1.64 \pm 0.15$  à  $25^\circ\text{C}$   $\mu = 0.11$  pH = 7.0, indiquant que c'est l'énantiomère  $\Lambda$ -(S,S) qui réagit le plus rapidement pour le système avec le cobalt(II) comme atome coordinateur. Cette observation renforce l'hypothèse faite au paragraphe 5.4.5., selon laquelle la stéréosélectivité et la reconnaissance chirale ne sont pas forcément les mêmes.

Pour le système  $[\text{Co}(\text{alamp})]$ -tampon phosphate, les paramètres d'activation sont très différents pour chaque énantiomère. C'est pour ce système que les différences entre les paramètres d'activation des deux énantiomères sont les plus élevés parmi tous ceux mesurés dans ce travail. La réactivité est à nouveau contrôlée principalement par le facteur enthalpique, plus favorable pour  $\Lambda$ -(S,S)alamp par rapport à  $\Delta$ -(R,R)alamp.

Cette observation est de nouveau attribuable à une contribution plus importante de l'enthalpie par rapport à l'entropie d'activation, ce qui inverse la stéréosélectivité. Cette compensation est également visible lorsqu'on représente  $\Delta H^\ddagger$  en fonction de  $\Delta S^\ddagger$  (cf. Fig. 65).

Le signe de  $\Delta\Delta G^\ddagger$ , positif dans ce cas, peut de nouveau être relié à la stéréosélectivité, qui est analogue à celle observée pour [Fe(promp)]. La reconnaissance chirale par contre est identique à celle obtenue pour le système [Fe(alamp)].  $\Delta\Delta H^\ddagger$  et  $\Delta\Delta S^\ddagger$ , définies au paragraphe 5.4.5., sont de + 17 kJ/mole et + 51 J/mole.K respectivement. Bien que ces valeurs soient très supérieures à celles obtenues pour les complexes contenant le fer(II) comme atome coordonnateur, leur signe indique que l'énantiomère  $\Delta$ -(R,R) peut s'approcher plus près de la surface protéinique ( $\Delta H^\ddagger_{RR} > \Delta H^\ddagger_{SS}$ ) et comme corollaire, la désolvatation sera plus importante ( $\Delta S^\ddagger_{RR} > \Delta S^\ddagger_{SS}$ ). La plastocyanine de l'épinard reconnaît donc préférentiellement l'énantiomère  $\Delta$ -(R,R).

### 6.2.1. Influence de la concentration d'imidazole sur la cinétique de réduction de PCu(II) par [Co(alamp)]

Les complexes que nous utilisons présentent tous une position de coordination libre car les ligands utilisés sont pentacoordinateurs (cf. Fig. 10). De ce fait, différents ions ou molécules présents en solution pourront se coordonner sur cette position vacante. Afin de fixer la composition du milieu réactionnel, un tampon phosphate ou imidazole est utilisé. L'influence de la nature et de la variation de concentration de tampon, dans le cas de l'imidazole, a été étudié pour la réduction de PCu(II) par [Co(alamp)].

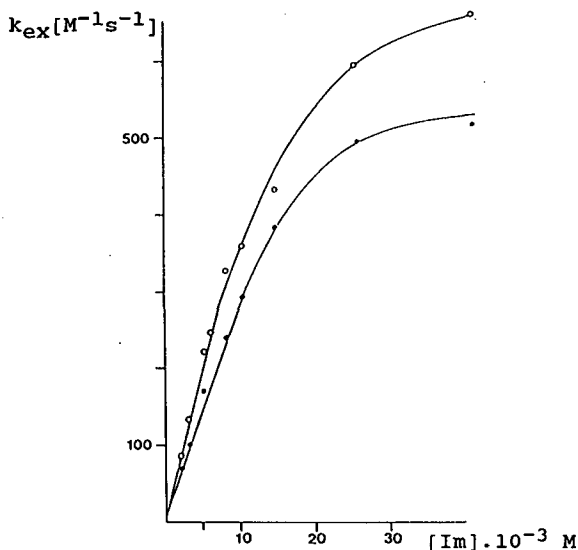
Les différentes solutions d'imidazole sont préparées de la manière suivante: une masse connue précisément de  $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  p.a. (environ 14 mg) et de (R,R) ou (S,S)alamp (environ 17 mg, excès de 20 %) sont pesés dans un ballon jaugé de 25 ml. Les tampons d'imidazole de concentration variables sont préparés en dissolvant dans un ballon jaugé de 250 ml une quantité connue précisément et allant de 35 mg à 140 mg d'imidazole dans de l'eau. La force ionique est fixée à  $\mu = 0.2$  par NaCl. Le pH des différents tampons ainsi préparés est amené à 7.02 par adjonction de quelques gouttes de HCl 2N. Une autre méthode utilisée pour préparer ces solutions est de peser la quantité voulue de  $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , de ligand et d'imidazole directement dans un ballon jaugé de 25 ml puis de dissoudre ce mélange avec une solution de NaCl de concentration variable afin de fixer la force ionique à 0.2. Les solutions ainsi préparées sont dégazées au moyen d'azote purifié par passage sur catalyseur BTS (cf. paragraphe 5.2.).

La solution de protéine est préparée par dilution d'une solution plus concentrée,  $A_{276}/A_{597} = 1.24$ , afin d'obtenir une concentration voisine de  $[\text{PCu(II)}]_0 = 2.4 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ .

Les conditions de mesure sont analogues à celles données au paragraphe 5.2.2. et le traitement des cinétiques est effectué au moyen du programme K-LIGNE. Les résultats obtenus

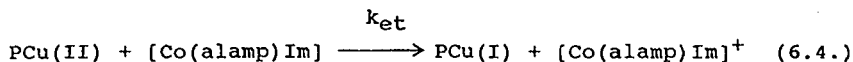
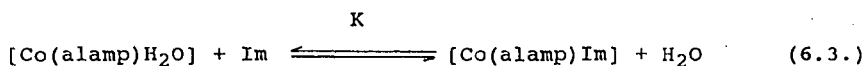
sont donnés dans l'annexe 4. A  $\text{pH} = 7.02$ , plus de 99 % de tout le  $\text{Co}^{2+}$  présent se trouve complexé par alamp.

La représentation  $k_{\text{ex}} = f([\text{Im}])$ , où  $k_{\text{ex}}$  représente la constante de vitesse du deuxième ordre, et la concentration d'imidazole correspond à la concentration totale de la forme protonée et de la forme déprotonée est donnée à la Fig. 69.



**Fig. 69** Représentation  $k_{\text{ex}} = f([\text{Im}])$  pour le système  $\text{Co}^{2+}$ :  
 alamp:tampon imidazole,  $\text{pH}=7.0$   $\mu=0.1$   $T=25^\circ\text{C}$   
 $[\text{Co}]_0 = 2.10^{-3} \text{ M}$   $[\text{alamp}]_0 = 2.5.10^{-3} \text{ M}$   
 ○ (R,R)-alamp  
 ● (S,S)-alamp

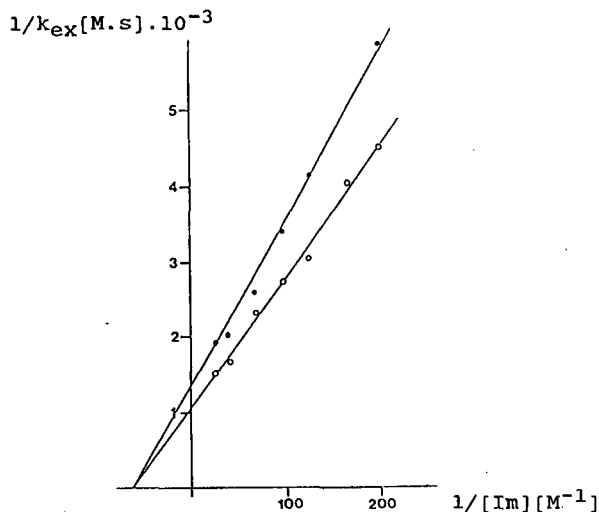
Ce graphe n'est pas linéaire en fonction de la concentration d'imidazole. A partir d'une concentration  $[\text{Im}] = 10.10^{-3} \text{ M}$ , l'augmentation de vitesse n'est pas proportionnelle à l'augmentation de concentration en imidazole. Cette saturation peut être expliquée en postulant le mécanisme suivant:



Pour un tel mécanisme, la loi de vitesse s'écrit:

$$k_{\text{ex}} = (k_{\text{et}} \cdot K \cdot [\text{Im}]) / (1 + K \cdot [\text{Im}]) \quad (6.5.)$$

La représentation  $1/k_{\text{ex}} = f(1/[\text{Im}])$  doit donner une droite de pente  $1/k_{\text{et}} \cdot K$  et dont l'ordonnée à l'origine est  $1/k_{\text{et}}$ . La Fig. 70 illustre une telle représentation. La constante d'équilibre pour (6.3.) et la constante de vitesse de TE  $k_{\text{et}}$  (6.4.), calculées à partir de ce graphe, sont réunies dans le tableau 6.2.



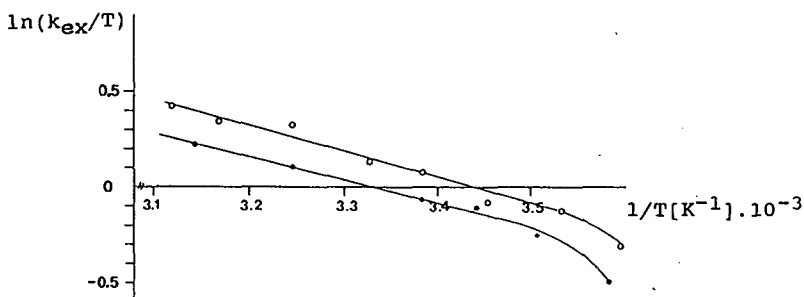
**Fig. 70** Représentation  $1/k_{\text{ex}} = f(1/[\text{Im}])$  pour le système  $\text{Co}^{2+}:\text{alamp}:\text{tampon imidazole}$ . Conditions identiques à celles de la Fig. 69.

### 6.2.2. Détermination des paramètres d'activation pour le système [Co(alamp)] - tampon imidazole

Les paramètres d'activation, obtenus pour une seule série de mesure et aux conditions données dans l'annexe 4, sont déterminées de manière analogue à celle décrite au chapitre 5. Les valeurs des constantes de vitesse observées se trouvent dans l'annexe 4. La représentation de Eyring pour cette série de mesure est donnée à la Fig. 71. Les valeurs d'activation sont réunies dans le tableau 6.2.

Tableau 6.2. Constantes d'équilibre et de vitesse déterminées au moyen de la relation (6.5) ainsi que les paramètres d'activation pour la réduction de PCu(II) par le système [Co(alamp)] tampon imidazole, pH =  $7.0 \pm 0.03$   $\mu = 0.11$

|                                  | $K^a$<br>[M <sup>-1</sup> ] | $k_{et}$<br>[M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> ] | $\Delta H^\ddagger$<br>[kJ/mole] | $\Delta S^\ddagger$<br>[J/mole.K] | $k_\Delta / k_\Lambda$ |
|----------------------------------|-----------------------------|------------------------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|------------------------|
| $\Delta$ -[Co((R,R)alamp)]       | 61 ± 10                     | 942 ± 60                                       | 11.4 ± 0.6                       | -158 ± 17                         | 1.25±0.15              |
| $\Lambda$ -[Co((S,S)alamp)]      | 51 ± 10                     | 840 ± 60                                       | 9.6 ± 0.8                        | -163 ± 17                         |                        |
| a : constante apparente à pH = 7 |                             |                                                |                                  |                                   |                        |



**Fig. 71** Représentation de Eyring pour le système  $Co^{2+}$ :alamp:  
 tampon imidazole. pH=7.0  $\mu=0.1$   
 $[Co]_0=2.10^{-3}$  M  $[alamp]_0=2.5.10^{-3}$  M  $[Im]_0=1.4.10^{-3}$  M  
 o (R,R)-alamp  
 ● (S,S)-alamp

### 6.2.3 Discussion

Le comportement cinétique du système  $[Co(alamp)]$  - tampon imidazole est très différent de celui où le tampon phosphate est utilisé. La vitesse de réduction de  $PCu(II)$  à pH = 7.0 par  $[Co(alamp)]$  dans le tampon imidazole est environ 450 fois plus élevée qu'en présence d'un tampon phosphate. L'augmentation de vitesse de TE due à la coordination d'une molécule d'imidazole sur un complexe rédox actif, a été reportée pour la réduction du cytochrome c, isolé du coeur de cheval, par le complexe  $[Ru(NH_3)_5Im]^{2+}$ . La constante de vitesse pour cette réaction est environ deux fois plus élevée que celle obtenue pour  $[Ru(NH_3)_6]^{2+}$  [100].

Par analogie aux résultats présentés au paragraphe 5.3, le complexe  $[\text{Co}(\text{alamp})]$  utilise le site hydrophobe "nord", entourant His-87 pour effectuer le TE. Ce site présente un reste imidazole, molécule aromatique et plane, en contact direct avec le solvant. Les complexes de fer(II) et de cobalt(II) étudiés dans ce travail étant tous neutres, les interactions qui vont influencer la formation du complexe précurseur vont être de type non-covalentes. Un moyen d'interaction entre le réactif  $[\text{Co}(\text{alamp})\text{Im}]$ , possédant sur la sixième position libre un ligand aromatique, et le reste imidazole de His-87, peut être de type intercalaire ("stacking interaction"). Ce "stacking" pourrait être responsable de l'augmentation de vitesse observée en passant du complexe  $[\text{Co}(\text{alamp})\text{H}_2\text{O}]$  (espèce réactive dans le tampon phosphate) à  $[\text{Co}(\text{alamp})\text{Im}]$ , car le milieu entre les deux réactifs devient moins polaire et favorise la délocalisation d'un électron sur la protéine. De telles interactions sont souvent invoquées dans la formation de complexes protéine - protéine ou ADN - complexes inorganiques [101].

Le phénomène de saturation observé en augmentant la concentration de tampon imidazole peut être expliqué par la série de réactions (6.3) et (6.4). Pour le système  $[\text{Co}(\text{alamp})]$  - tampon imidazole, la vitesse de réaction est régie essentiellement par la concentration de l'espèce  $[\text{Co}(\text{alamp})\text{Im}]$ ; la constante de vitesse du deuxième ordre pour la réduction de  $\text{PCu(II)}$  par l'espèce  $[\text{Co}(\text{alamp})\text{H}_2\text{O}]$  est environ 450 fois plus faible que celle de  $[\text{Co}(\text{alamp})\text{Im}]$ . La contribution de l'acquacomplexe à la cinétique est de ce fait négligeable.

Le système  $[\text{Co}(\text{alamp})]$  - tampon imidazole présente une stéréosélectivité inversée par rapport à celle déterminée pour le système  $[\text{Co}(\text{alamp})]$  - tampon phosphate. En présence d'imidazole, la sélectivité est en faveur de l'isomère  $\Delta$ , comme pour les systèmes  $[\text{Fe}(\text{alamp})]$  et  $[\text{Fe}(\text{valmp})]$  dans un tampon phosphate. C'est de nouveau le facteur entropique qui

compense la contribution enthalpique défavorable et qui permet à  $\Delta$ -[Co((R,R)alamp)Im] de réagir plus rapidement que le complexe énantiomère. La compensation entre  $\Delta H^\ddagger$  et  $\Delta S^\ddagger$  se voit également dans la Fig. 65. Les deux paires d'énantiomères pour les systèmes [Co(alamp)] - tampon phosphate et imidazole se trouvent sur une droite parallèle à celle obtenue pour les complexes de fer(II).

Une diminution importante de l'enthalpie d'activation est observée en passant du tampon phosphate au tampon imidazole. Cela signifie que la molécule aromatique imidazole favorise le TE. Cette observation est en accord avec l'hypothèse mécanistique proposant une intercalation du cycle imidazole coordonné sur le complexe avec le reste His-87 de la protéine. L'équilibre de formation de [Co(alamp)Im] également va apporter une certaine contribution dans l'enthalpie d'activation. En effet, cette dernière se compose d'une contribution due au réarrangement dans la structure des réactifs et d'un terme provenant de l'enthalpie de formation du complexe précurseur. Il faut noter que, pour la réaction dans le tampon imidazole, la mesure des paramètres énergétiques s'est faite dans des conditions où la concentration du complexe [Co(alamp)Im] est environ égale à celle de [Co(alamp)H<sub>2</sub>O] ( 55% / 45% resp.).

La reconnaissance chirale est en faveur de la forme  $\Delta$ -(R,R), car les différences  $\Delta\Delta H^\ddagger$  et  $\Delta\Delta S^\ddagger$  sont toutes positives. Ce résultat est en accord avec les autres mesures, qui montrent que la protéine reconnaît préférentiellement la forme  $\Delta$ -(R,R) pour tous les complexes étudiés.

Le fait d'observer une stéréosélectivité supporte l'hypothèse que l'électron est bien transféré par l'intermédiaire de la sixième position libre du complexe. Un argument supplémentaire est le fait que la vitesse du TE est dépendante de la nature du milieu dans lequel se fait la réaction. Ce résultat indique que, pour le tampon imidazole en tout cas, le TE n'a pas lieu par coordination directe du cobalt sur N<sup>6</sup> de His-87. Le mécanisme de TE serait donc de type sphère externe.

## Chapitre 7

### Discussion générale

Ce travail a permis de mettre en évidence d'une manière certaine l'existence d'une stéréosélectivité lors du TE entre la plastocyanine de l'épinard et différents complexes énantiomères de fer(II) et de cobalt(II).

La caractéristique la plus frappante de cette stéréosélectivité est qu'elle n'a pas le même signe pour les différents complexes utilisés. Pour les complexes énantiomères du système [Fe(alamp)] et de [Fe(valmp)], la sélectivité est en faveur de la forme  $\Delta$ -exo-(R,R), alors que pour le système [Fe(promp)], l'énantiomère  $\Delta$ -exo-(S,S) réagit plus rapidement. Un tel comportement s'observe également pour le système [Co(alamp)], dépendant du milieu utilisé. Dans un tampon imidazole, le rapport  $k_{\Delta}/k_{\Lambda}$  est en faveur de l'énantiomère  $\Delta$ -exo-(R,R), comme dans le cas du [Fe(alamp)], alors que dans un milieu phosphate, c'est l'isomère  $\Delta$ -exo-(S,S) qui présente la constante de vitesse la plus élevée.

En mesurant les paramètres d'activation, il a été possible de montrer que la stéréosélectivité observée résulte d'un phénomène de compensation entre l'enthalpie d'activation et l'entropie d'activation. Dans tous les cas où l'énantiomère  $\Delta$ -exo-(R,R) réagit plus rapidement, c'est la contribution entropique qui est le terme déterminant pour définir la stéréosélectivité. Dans le cas contraire, c.a.d pour les systèmes [Fe(promp)] et [Co(alamp)]-tampon phosphate, où c'est  $\Delta$ -exo-(S,S) qui présente une constante de vitesse plus élevée, le terme entropique n'arrive plus à compenser la contribution enthalpique et la stéréosélectivité est donnée par le système présentant l'enthalpie d'activation la plus faible. Le phénomène de compensation est bien connu pour les réactions impliquant des protéines et a été observé pour de nombreuses réactions entre complexes inorganiques et

protéines [95]. Il est intéressant de remarquer que ce phénomène ne se trouve pas uniquement pour des réactifs de nature chimique différente, mais également pour des énantiomères. Un tel comportement compensatoire a été attribué en grande partie à un effet du solvant. Le modèle que l'on peut se faire afin d'expliquer ce phénomène est le suivant: le terme enthalpique d'activation contient une composante liée à l'énergie nécessaire pour amener les réactifs proches les uns des autres afin de permettre le TE et une seconde composante liée à l'énergie nécessaire pour rompre la couche d'hydratation des espèces réagissantes. Le terme entropique d'activation se compose des contributions dues au réarrangement des molécules de solvant. Plus les réactifs se rapprochent, plus la couche d'hydratation sera perturbée; une orientation particulière du réactif inorganique vis à vis de la protéine sera également favorisée. Tout ces processus se traduisent par un  $\Delta H^\ddagger$  élevé et un  $\Delta S^\ddagger$  moins négatif.

Lorsque ce modèle est appliqué aux réactions ayant lieu avec des réactifs énantiomères, l'enthalpie d'activation élevée détermine lequel des réactifs va s'approcher le plus près de la protéine; c'est ce que l'on nomme reconnaissance chirale. La stéréosélectivité par contre est l'expression macroscopique de tous les facteurs énergétiques du système. Pour tous les cas étudiés dans ce travail, la reconnaissance chirale que montre la protéine est en faveur de l'énantiomère  $\Delta$ -(R,R). Comme le montre les cas de [Fe(promp)] et [Co(alamp)]-tampon phosphate, cette reconnaissance chirale ne détermine pas toujours la stéréosélectivité; dans ces deux cas, le réactif présentant la meilleure reconnaissance chirale réagit le plus lentement.

Comme le montre ces résultats, le solvant joue un rôle très important dans le TE impliquant la plastocyanine. Afin d'étudier son importance sur le TE, il serait intéressant d'effectuer des mesures semblables à celles décrites dans ce travail, mais dans des milieux non acqueux, (diméthylsul-

foxyde, diméthylformamide ou encore le méthanol).

Le fait d'observer une stéréosélectivité indique que la différenciation est due à des interactions stériques entre les restes (R,R)-exo ou (S,S)-exo méthyles, isopropyles ou pyrrolydinyles et la surface protéinique. Il s'en suit que le TE a lieu par l'intermédiaire de la sixième position coordinative libre du complexe sur le site hydrophobe nord, proche de His-87.

Une discussion détaillée de l'influence de la distance sur le TE n'est pas possible avec les résultats que nous avons obtenus. En effet, la littérature [102] - [106] indique que pour déterminer la distance sur laquelle l'électron est transféré à partir des constantes de vitesse, la connaissance des constantes de vitesse d'auto-oxydation des réactifs inorganiques  $k_{11}$  et de la plastocyanine  $k_{22}$  est nécessaire. Dans notre cas, la valeur de  $k_{11}$  est inconnue et de ce fait, toute estimation est impossible. La seule remarque qu'il est possible de faire est de dire que plus la taille des restes augmente, plus la vitesse diminue. Un moyen d'étudier l'influence de la distance sur le TE serait de calculer la situation d'énergie la plus faible au moyen d'un programme de calcul moléculaire et de déterminer ainsi la distance entre les deux centres métalliques qui correspond à l'état le plus stable.

Les systèmes synthétiques que nous avons utilisés dans ce travail sont très intéressants, car en plus de leur sélectivité lors du TE, les complexes de fer(II) ou de cobalt(II) sont neutres. Les interactions électrostatiques, qui jouent un rôle très important lors du TE entre complexes inorganiques et les métalloprotéines en général [108], sont dans ce cas absentes, ce qui permet d'amener des simplifications dans la théorie de Marcus.

En plus du facteur distance qui est important dans le TE, la différence entre les potentiels d'oxydo - réduction ( $\Delta E$ ) joue un rôle de première importance dans la théorie de Marcus. La relation (5.4) montre que  $\Delta G^\ddagger$  est proportionnel à  $(\Delta E)^2$ . La réduction de  $\text{PCu(II)}$  par les complexes de fer(II) dépend dans une certaine mesure de la différence de potentiel, mais il faut tout de fois rappeler le fait que les  $E_1$  utilisés pour calculer  $\Delta E$  ne correspondent pas à des systèmes réversibles.

## Chapitre 8

### Bibliographie

- [1] B.Vennesland, Topics in Current Chemistry, Vol.48  
p.39-66, Springer Verlag, Berlin (1974)
- [2] E.Frieden, "Metal Ions in Biological Systems", 1<sup>ere</sup>  
édition, 13, p.1-14, Marcel Dekker Inc, New York,  
(1981)
- [3] D.Boulter, B.G.Haslett, D.Peacock, J.A.Ramshaw, M.D.  
Scawen, Plant Biochem. II, 13, 1, (1977)
- [4] S.Katoh, A.Takamiya, Nature, 189, 1665, (1961)
- [5] G.Hauska, R.E.Mc Carty, R.J.Berzborn, E.Racker,  
J.Biol.Chem., 246, 3524, (1971)
- [6] S. Katoh, A. Takamiya, Biochim.Biophys. Acta, 4, 335,  
(1963)
- [7] S.Katoh, I.Shiratori, A.Takamiya, J.Biochem (Tokyo),  
51, 32, (1962)
- [8] E.L.Gross, G.P.Anderson, S.L.Ketchner, J.E.Draheim,  
Biochem.Biophys.Acta, 808, 437, (1985)
- [9] C.Bengis, N.Nelson, J.Biol.Chem., 252, 4564, (1977)
- [10] R.M.Wynn, R.Malkin, Biochemistry, 27, 5863, (1988)
- [11] E.I.Solomon, J.W.Hare, D.M.Dooley, J.H.Dawson, P.J.  
Stephens, H.B.Gray, J.Am.Chem.Soc., 102, 168, (1980)
- [12] M.D.Scawen, E.J.Hewitt, D.M.James, Phytochemistry,  
14, 1225, (1975)
- [13] J.M.Guss, H.C.Freeman, J.Mol.Biol, 169, 521, (1983)
- [14] J.M.Guss, P.R.Harrowell, M.Murata, V.A.Norris, H.C.  
Freeman, J.Mol.Biol., 192, 361, (1986)
- [15] H.P.Garett, D.J.Clingeffer, J.M.Guss, S.J.Roger,  
H.C.Freeman, J.Biol.Chem., 259, 2822, (1984)
- [16] J.M.Moore, D.A.Case, W.J.Chazin, G.P.Gippert, T.F.  
Havel, R.Powls, P.E.Wright, Science, 240, 314,  
(1988)
- [17] J.W.Hare, E.I.Solomon, H.B.Gray, J.Am.Chem.Soc., 98  
3205, (1976)
- [18] M.Lundeen, J.Coord.Chem., 12, 1, (1982)

- [19] L.Morpugo, G.Rotilio, A.Finazzi-Agro, B.Mondovi, Arch.Biochem.Biophys, 161, 291, (1974)
- [20] R.H.L.Marks, R.D.Miller, Arch.Biochim.Biophys., 195, 103, (1979)
- [21] O.Farver, I.Pecht, Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A., 78, 4190, (1981)
- [22] D.Beoku-Betts, S.K.Chapman, C.V.Knox, A.G.Sykes, Inorg.Chem., 24, 1677, (1985)
- [23] P.M.Wood, Biochim.Biophys.Acta, 357, 370, (1974)
- [24] M.A.Augustin, S.K.Chapman, A.G.Sykes, S.H.Speck, E. Margoliash, J.Biol.Chem., 258, 6405, (1983)
- [25] G.Tollin, T.E.Meyer, G.Cheddar, E.D.Getzolf, M.A. Cuzanovitch, Biochemistry, 25, 3361, (1986)
- [26] M.G.Segal, A.G.Sykes, J.Am.Chem.Soc., 100, 4585, (1978)
- [27] A.G.Lappin, M.G.Segal, D.C.Weatherburn, A.G.Sykes, J.Am.Chem.Soc., 101, 2297, (1979)
- [28] R.A.Holwerda, D.B.Knaff, H.B.Gray, J.D.Clemmer, R. Crowley, J.M.Smith, A.G.Mauk, J.Am.Chem.Soc., 102, 1142, (1980)
- [29] S.K.Chapman, C.V.Knox, P.Kathirgamanathan, A.G. Sykes, J.Chem.Soc.Dalton Trans., 2769, (1984)
- [30] S.Wherland, R.A.Holwerda, R.C.Rosenberg, H.B.Gray, J.Am.Chem.Soc., 97, 5260, (1975)
- [31] R.G.Rosenberg, S.Wherland, R.A.Holwerda, H.B.Gray, J.Am.Chem.Soc., 98, 6364, (1976)
- [32] A.G.Mauk, E.Bordington, H.B.Gray, J.Am.Chem.Soc., 104, 7654, (1982)
- [33] J.R.Pladziewicz, M.S.Brenner, Inorg.Chem., 26, 3629, (1987)
- [34] J.R.Pladziewicz, M.S.Brenner, D.A.Rodberg, M.D. Likar, Inorg.Chem., 24, 1450, (1985)
- [35] J.McGinnis, J.D.Sinclair-Day, A.G.Sykes, J.Chem.Soc. Dalton Trans., 2007, (1986)
- [36] S.K.Chapman, A.D.Watson, A.G.Sykes, J.Chem.Soc. Dalton Trans., 2543, (1983)

- [37] P.M.Hanford, H.A.Hill, R.Wing-Kai Lee, R.A. Henderson, A.G.Sykes, J.Inorg.Biochem., 13, 83, (1980)
- [38] D.J.Cookson, M.T.Hayes, P.E.Wright, Nature, 283, 682, (1980)
- [39] S.K.Chapman, C.V.Knox, P.Kathirgamanathan, A.G. Sykes, J.Chem.Soc.Dalton Trans., 2769, (1984)
- [40] O.Farver, I.Pecht, Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A., 78, 4190, (1981)
- [41] C.C.King, R.A.Binstead, P.E.Wright, Biochim.Biophys. Acta, 806, 262, (1985)
- [42] O.Farver, Y.Shahak, I.Pecht, Biochemistry, 21, 1885, (1982)
- [43] D.J.Cookson, M.T.Hayes, P.E.Wright, Biochim.Biophys. Acta, 591, 162, (1980)
- [44] K.O.Burkey, E.L.Gross, Biochemistry, 21, 5886, (1982)
- [45] G.P.Anderson, D.G.Sanderson, S.H.Lee, L.B.Anderson, E.L.Gross, Biochim.Biophys.Acta, 894, 386, (1987)
- [46] B.S.Brunschwig, P.J.DeLaive, A.English, M.Goldberg, H.B.Gray, S.L.Mayo, N.Sutin, Inorg.Chem., 24, 3743, (1985)
- [47] K.Bernauer, P.Pousaz, Helv.Chim.Acta, 67, 796, (1984)
- [48] P. Pousaz, Thèse de Doctorat, Université de Neuchâtel, (1982)
- [49] J.Jeanguenat, Travail de diplôme, Université de Neuchâtel, (1987)
- [50] H.Stoeckli-Evans, L.Brehm, P.Pousaz, K.Bernauer, H.B.Bürgi, Helv.Chim.Acta, 68, 185, (1985)
- [51] D.W.Gruenwedel, Inorg.Chem., 7, 495, (1968)
- [52] R.G.Lacoste, G.V.Christoffers, A.E.Martell, J.Am. Chem.Soc., 87, 2385, (1965)
- [53] R.Nakon, P.R.Rechani, R.J.Angelici, Inorg.Chem., 12, 2431, (1973)
- [54] H.Takalo, P.Pasanen, J.Kankare, Acta Chem.Scand., Ser.B, 42, 373, (1988)

- [55] Beilstein, 4, 340
- [56] M. Shibata, "Topics in Current Chemistry, Modern Syntheses of Cobalt(III) Complexes", Vol. 110, 1<sup>ere</sup> édition, Springer Verlag, Berlin, (1983)
- [57] C.N. Elgy, C.F. Wells, J. Chem. Soc. Dalton Trans., 2405, (1980)
- [58] W.L. Purcell, Inorg. Chem., 25, 4068, (1986)
- [59] H.F. Holtzclaw, "Inorganic Syntheses", Vol. 8, p. 202, McGraw-Hill Company, New York, (1966)
- [60] R.W. Parry, "Inorganic Syntheses", Vol. 12, p. 212, McGraw-Hill Company, New York, (1970)
- [61] W.C. Fernelius, "Inorganic Syntheses", Vol. 2, p. 217, McGraw-Hill Company, New York, (1946)
- [62] J.B. Mandel, C. Maricand, B.E. Douglas, Inorg. Chem., 27, 2990, (1988)
- [63] K. Nakamoto, "Infrared Spectra of Inorganic and Coordination Compounds", 2<sup>eme</sup> édition, p. 212, John Wiley Company, New York, (1970)
- [64] G.M. Sheldrick, SHELX-76, Université de Cambridge, (1976)
- [65] International Tables for X-Ray Crystallography, Vol. 4, Kynoch Press, Birmingham, (1974)
- [66] E.S. Kucharski, B.W. Shelton, A.H. White, Austr. J. Chem., 31, 47, (1978)
- [67] H. Okazaki, K. Tokoimaka, H. Yoneda, Inorg. Chim. Acta, 74, 169, (1983)
- [68] J.K. Beattie, J. Chem. Soc. Dalton Trans., 2105, (1981)
- [69] D.D. Perrin, H. Stünzi, Programme SCOGS, Université de Neuchâtel, (1984)
- [70] G. Vuille, Programme EQUILIBRE, Thèse, Université de Neuchâtel, (1981)
- [71] A.E. Martell, R.M. Smith, Critical Stability Constants, Vol. 1, Plenum Press, New York, (1974)
- [72] H. Irving, R.J.P. Williams, J. Chem. Soc., 3192, (1953)
- [73] R.A. Marcus, Discuss. Faraday Soc., 29, 21, (1960)
- [74] D.A. Geselowitz, H. Taube, J. Am. Chem. Soc., 102, 4525, (1980)

- [75] K.Bernauer, Publication acceptée, a paraître.
- [76] R.A.Scott, A.G.Mauk, H.B.Gray, J.Chem.Ed., 62, 932, (1985)
- [77] D.P.Martone, P.Osvath, C.Eigenbrot, M.C.M.Laranjeira, R.D.Peacock, A.G.Lappin, Inorg.Chem., 24, 4693, (1985)
- [78] A.G.Lappin, R.A.Marusak, P.Osvath, Inorg.Chem., 26, 4292, (1987)
- [79] R.A.Marcus, N.Sutin, Biochim.Biophys.Acta, 811, 265, (1985)
- [80] A.G.Mauk, E.Bordignon, H.B.Gray, J.Am.Chem.Soc., 104, 7654, (1982)
- [81] O.Farver, I.Pecht, Coord.Chem.Review, 94, 17, (1989)
- [82] F.A.Armstrong, A.G.Sykes, J.Am.Chem.Soc., 100, 7710, (1978)
- [83] H.E.Toma, R.A.Murakami, Inorg.Chim.Acta, 93, L.33, (1984)
- [84] K.Bernauer, J.J.Sauvain, J.Chem.Soc.Chem.Comm., 353, (1988)
- [85] S.Sakaki, Y.Nishijima, H.Koga, K.Ohkubo, Inorg.Chem., 28, 4063, (1989)
- [86] R.A.Marusak, T.P.Shields, A.G.Lappin, communication personnelle
- [87] K.Bernauer, M.Monzione, P.Schürman, V.Viette, Helv.Chim.Acta, 73, 346, (1990)
- [88] P.Schürman, K.Maeda, A.Tsugita, Eur.J.Biochem., 116, 37, (1981)
- [89] S.G.Mayhew, L.G.Howell, Anal.Biochem., 41, 466, (1971)
- [90] E.T.Adams, "Metalloproteins, Part 1: Metal Proteins with Redox Roles", p.1, Pauline Harrison Editor, Weinheim, (1985)
- [91] H.Stünzi, Programme STOFLOW, Université de Neuchâtel
- [92] S.K.Chapman, I.Sanemasa, A.G.Sykes, J.Chem.Soc. Dalton Trans., 2549, (1983)

- [93] S.Katoh, A.Takamiya, J.Biochem.(Tokyo), 55, 378, (1964)
- [94] F.A.Armstrong, P.C.Driscoll, H.G.Ellul, S.E.Jackson, A.M.Lannon, J.Chem.Soc.Chem.Comm., 234, (1988)
- [95] R.Lummry, S.Rajender, Biopolymers, 2, 1125, (1970)
- [96] S.Meggert, Travail de diplôme, Université de Neuchâtel, (1990)
- [97] D.Hugi, Programme K-LIGNE, Université de Neuchâtel, (1989)
- [98] A.G.Sykes, "Advances in Inorganic and Bioinorganic Mechanisms", Vol.1, p.391, Academic Press, London, (1982)
- [99] H.C.Stynes, J.A.Ibers, Inorg.Chem., 10, 2304, (1971)
- [100] D.G.Nocera, J.R.Winkler, K.M.Yocom, E.Bordignon, H.B.Gray, J.Am.Chem.Soc., 106, 5145, (1984)
- [101] J.K.Barton, Comments Inorg.Chem., 3, 321, (1985)
- [102] G.McLendon, T.Guarr, M.McGuire, K.Simolo, S.Strauch, K.Taylor, Coord.Chem.Review, 64, 113, (1985)
- [103] S.E.Peterson, J.L.McGourty, P.S.Ho, C.J.Sutoris, N.Liang, H.Zemel, N.V.Blough, E.Margoliash, B.M.Hoffman, Coord.Chem.Review, 64, 125, (1985)
- [104] N.S.Hush, Coord.Chem.Review, 64, 135, (1985)
- [105] A.G.Mauk, R.A.Scott, H.B.Gray, J.Am.Chem.Soc., 102, 4360, (1980)
- [106] C.L.Closs, J.R.Miller, Science, 240, 440, (1988)
- [107] S.L.Mayo, W.R.Ellis, R.Crutchley, H.B.Gray, Science, 233, 948, (1986)
- [108] S.K.Chapman, J.D.Sinclair-Day, A.G.Sykes, S.C.Tam, R.J.P.Williams, J.Chem.Soc.Chem.Comm., 1152, (1983)

## Annexe 1

### Constantes de vitesse pour la réduction de PCu(II) par [Fe(alamp)] dans un tampon phosphate.

#### [Fe((R,R)alamp)]

Conditions de mesure:

1.1 T = 25°C Tampon phosphate  $\mu = 0,1$  (tampon phosphate)  
 $\lambda = 597 \text{ nm}$   $[\text{PCu(II)}]_0 = 2,3 \cdot 10^{-5} \text{ M}$   $[\text{Fe(II)}]_0 = 4,03 \cdot 10^{-3} \text{ M}$   
 $[(\text{R,R})\text{alamp}]_0 = 5,4 \cdot 10^{-3} \text{ M}$

| pH   | $[\text{Fe}(\text{R,R})\text{alamp}]_c^1$<br>. $10^{-3} \text{ M}$ | $k_{\text{obs}}^2$<br>$\text{s}^{-1}$ |
|------|--------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|
| 7,03 | 2,01                                                               | 77,14                                 |
|      | 1,61                                                               | 58,58                                 |
|      | 1,21                                                               | 47,34                                 |
|      | 1,01                                                               | 39,84                                 |
|      | 0,80                                                               | 30,54                                 |
|      | 0,48                                                               | 17,40                                 |
|      | 0,40                                                               | 15,37                                 |
|      | 0,16                                                               | 3,58                                  |

<sup>1</sup> : Les concentrations de complexes sont celles calculées au moyen du programme EQUILIBRE. Les indices  $_0$  et  $_c$  correspondent aux concentrations dans les ballons jaugés et dans la cuve du spectrophotomètre stopped-flow, respectivement. Le facteur de dilution dans la cuve est de 2.

<sup>2</sup> : Les erreurs que nous estimons sur les valeurs des constantes de vitesse sont inférieures à 5 %, et ceci pour toutes les séries de mesures données dans cette annexe.

1.2 T = 25°C Tampon phosphate  $\mu = 0,1$  (tampon phosphate)  
 $\lambda = 597 \text{ nm}$   $[\text{PCu(II)}]_0 = 3,13 \cdot 10^{-5} \text{ M}$   $[\text{Fe(II)}]_0 = 3,9 \cdot 10^{-3} \text{ M}$   
 $[(\text{R,R})\text{alamp}]_0 = 3,9 \cdot 10^{-3} \text{ M}$

| pH   | $[\text{Fe(R,R)alamp}]_C$<br>$\cdot 10^{-3} \text{ M}$ | $k_{\text{obs}}$<br>$\text{s}^{-1}$ |
|------|--------------------------------------------------------|-------------------------------------|
| 7,04 | 1,94                                                   | 73,46                               |
|      | 1,56                                                   | 62,30                               |
|      | 1,16                                                   | 41,53                               |
|      | 0,97                                                   | 34,78                               |
|      | 0,77                                                   | 29,04                               |
|      | 0,46                                                   | 13,19                               |
|      | 0,39                                                   | 7,26                                |
|      | 0,15                                                   | 0,70                                |

1.3 T = 25°C Tampon phosphate  $\mu = 0,1$  (tampon phosphate)  
 $\lambda = 597 \text{ nm}$   $[\text{PCu(II)}]_0 = 2,31 \cdot 10^{-5} \text{ M}$   $[\text{Fe(II)}]_0 = 3,96 \cdot 10^{-3} \text{ M}$   
 $[(\text{S,S})\text{alamp}]_0 = 5,60 \cdot 10^{-3} \text{ M}$

| pH   | $[\text{Fe(R,R)alamp}]_C$<br>$\cdot 10^{-3} \text{ M}$ | $k_{\text{obs}}$<br>$\text{s}^{-1}$ |
|------|--------------------------------------------------------|-------------------------------------|
| 6,13 | 1,90                                                   | 61,09                               |
|      | 1,52                                                   | 50,28                               |
|      | 1,14                                                   | 35,07                               |
|      | 0,91                                                   | 27,49                               |
|      | 0,76                                                   | 19,99                               |
|      | 0,44                                                   | 8,00                                |
|      | 0,30                                                   | 2,88                                |

1.4 T = 25°C Tampon acétate  $\mu = 0,1$  (tampon acétate)  
 $\lambda = 597 \text{ nm}$   $[\text{PCu(II)}]_0 = 2,13 \cdot 10^{-5} \text{ M}$   $[\text{Fe(II)}]_0 = 3,74 \cdot 10^{-3} \text{ M}$   
 $[(\text{R,R})\text{alamp}]_0 = 5,44 \cdot 10^{-3} \text{ M}$

| pH   | $[\text{Fe(R,R)alamp}]_C$<br>.10 <sup>-3</sup> M | $k_{\text{obs}}$<br>s <sup>-1</sup> |
|------|--------------------------------------------------|-------------------------------------|
| 5,00 | 0,63                                             | 21,73                               |
|      | 0,46                                             | 15,83                               |
|      | 0,30                                             | 10,31                               |
|      | 0,22                                             | 6,37                                |
|      | 0,16                                             | 4,81                                |
|      | 0,07                                             | 1,51                                |

$[\text{Fe(S,S)alamp}]$

Conditions de mesure

1.5 T = 25°C Tampon phosphate  $\mu = 0,1$  (tampon phosphate)  
 $\lambda = 597 \text{ nm}$   $[\text{PCu(II)}]_0 = 1,95 \cdot 10^{-5} \text{ M}$   $[\text{Fe(II)}]_0 = 5,87 \cdot 10^{-3} \text{ M}$   
 $[(\text{S,S})\text{alamp}]_0 = 7,53 \cdot 10^{-3} \text{ M}$

| pH   | $[\text{Fe(S,S)alamp}]_C$<br>.10 <sup>-3</sup> M | $k_{\text{obs}}$<br>s <sup>-1</sup> |
|------|--------------------------------------------------|-------------------------------------|
| 6.93 | 2,94                                             | 54,88                               |
|      | 1,96                                             | 36,13                               |
|      | 1,45                                             | 23,73                               |
|      | 0,98                                             | 16,12                               |
|      | 0,78                                             | 12,07                               |
|      | 0,59                                             | 5,68                                |
|      | 0,39                                             | 1,73                                |

1.6 T = 25°C Tampon phosphate  $\mu = 0,1$  (tampon phosphate)  
 $\lambda = 597 \text{ nm}$   $[\text{PCu(II)}]_0 = 2,96 \cdot 10^{-5} \text{ M}$   $[\text{Fe(II)}]_0 = 4,07 \cdot 10^{-3} \text{ M}$   
 $[(\text{S,S})\text{alamp}]_0 = 3,75 \cdot 10^{-3} \text{ M}$

| pH   | $[\text{Fe}(\text{S,S})\text{alamp}]_c$<br>$\cdot 10^{-3} \text{ M}$ | $k_{\text{obs}}$<br>$\text{s}^{-1}$ |
|------|----------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|
| 7,02 | 1,88                                                                 | 41,98                               |
|      | 1,41                                                                 | 28,88                               |
|      | 1,17                                                                 | 20,63                               |
|      | 0,94                                                                 | 14,55                               |
|      | 0,56                                                                 | 6,95                                |
|      | 0,47                                                                 | 5,21                                |
|      | 0,19                                                                 | 1,19                                |

1.7 T = 25°C Tampon phosphate  $\mu = 0,1$  (tampon phosphate)  
 $\lambda = 597 \text{ nm}$   $[\text{PCu(II)}]_0 = 2,62 \cdot 10^{-5} \text{ M}$   $[\text{Fe(II)}]_0 = 4,06 \cdot 10^{-3} \text{ M}$   
 $[(\text{S,S})\text{alamp}]_0 = 3,69 \cdot 10^{-3} \text{ M}$

| pH   | $[\text{Fe}(\text{S,S})\text{alamp}]_c$<br>$\cdot 10^{-3} \text{ M}$ | $k_{\text{obs}}$<br>$\text{s}^{-1}$ |
|------|----------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|
| 7,04 | 1,84                                                                 | 46,25                               |
|      | 1,47                                                                 | 35,32                               |
|      | 1,11                                                                 | 25,47                               |
|      | 0,92                                                                 | 20,87                               |
|      | 0,74                                                                 | 12,99                               |
|      | 0,44                                                                 | 7,03                                |
|      | 0,37                                                                 | 6,57                                |

Les cinétiques 1.2, 1.6 et 1.7 ont été effectuées en présence d'acide ascorbique, de concentration voisine de  $3,77 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ .

1.8 T = 25°C Tampon phosphate  $\mu = 0,1$  (tampon phosphate)  
 $\lambda = 597 \text{ nm}$   $[\text{PCu(II)}]_0 = 2,30 \cdot 10^{-5} \text{ M}$   $[\text{Fe(II)}]_0 = 4,0 \cdot 10^{-3} \text{ M}$   
 $[(\text{S,S})\text{alamp}]_0 = 5,38 \cdot 10^{-3} \text{ M}$

| pH   | $[\text{Fe}(\text{S,S})\text{alamp}]_c$<br>$\cdot 10^{-3} \text{ M}$ | $k_{\text{obs}}$<br>$\text{s}^{-1}$ |
|------|----------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|
| 7,03 | 2,00                                                                 | 47,07                               |
|      | 1,60                                                                 | 37,07                               |
|      | 1,20                                                                 | 27,69                               |
|      | 1,00                                                                 | 24,09                               |
|      | 0,80                                                                 | 19,21                               |
|      | 0,48                                                                 | 7,60                                |
|      | 0,16                                                                 | 2,38                                |

1.9 T = 25°C Tampon phosphate  $\mu = 0,1$  (tampon phosphate)  
 $\lambda = 597 \text{ nm}$   $[\text{PCu(II)}]_0 = 2,31 \cdot 10^{-5} \text{ M}$   $[\text{Fe(II)}]_0 = 3,89 \cdot 10^{-3} \text{ M}$   
 $[(\text{S,S})\text{alamp}]_0 = 5,46 \cdot 10^{-3} \text{ M}$

| pH   | $[\text{Fe}(\text{S,S})\text{alamp}]_c$<br>$\cdot 10^{-3} \text{ M}$ | $k_{\text{obs}}$<br>$\text{s}^{-1}$ |
|------|----------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|
| 6,13 | 1,98                                                                 | 39,63                               |
|      | 1,59                                                                 | 28,42                               |
|      | 1,19                                                                 | 22,67                               |
|      | 0,99                                                                 | 16,73                               |
|      | 0,79                                                                 | 10,91                               |
|      | 0,47                                                                 | 5,03                                |
|      | 0,16                                                                 | 0,50                                |

1.10 T = 25°C Tampon phosphate  $\mu = 0,1$  (tampon phosphate)  
 $\lambda = 597 \text{ nm}$   $[\text{PCu(II)}]_0 = 2,31 \cdot 10^{-5} \text{ M}$   $[\text{Fe(II)}]_0 = 3,82 \cdot 10^{-3} \text{ M}$   
 $[(\text{S,S})\text{alamp}]_0 = 5,32 \cdot 10^{-3} \text{ M}$

| pH   | [Fe(S,S)alamp] <sub>c</sub><br>· 10 <sup>-3</sup> M | k <sub>obs</sub><br>s <sup>-1</sup> |
|------|-----------------------------------------------------|-------------------------------------|
| 6,13 | 1,89                                                | 36,20                               |
|      | 1,47                                                | 26,90                               |
|      | 1,10                                                | 22,30                               |
|      | 0,88                                                | 16,31                               |
|      | 0,74                                                | 12,49                               |
|      | 0,42                                                | 4,21                                |
|      | 0,29                                                | 2,37                                |

1.11 T = 25°C Tampon acétate μ = 0,1 (tampon acétate)  
λ = 597 nm [PCu(II)]<sub>0</sub> = 2,13 · 10<sup>-5</sup> M [Fe(II)]<sub>0</sub> = 3,67 · 10<sup>-3</sup> M  
[(S,S)alamp]<sub>0</sub> = 5,45 · 10<sup>-3</sup> M

| pH   | [Fe(S,S)alamp] <sub>c</sub><br>· 10 <sup>-3</sup> M | k <sub>obs</sub><br>s <sup>-1</sup> |
|------|-----------------------------------------------------|-------------------------------------|
| 5,00 | 0,63                                                | 11,05                               |
|      | 0,45                                                | 7,94                                |
|      | 0,29                                                | 5,87                                |
|      | 0,22                                                | 3,31                                |
|      | 0,16                                                | 2,54                                |
|      | 0,07                                                | 1,07                                |

Constantes de vitesses pour la réduction de PCu(II) par  
[Fe(alamp)] dans un tampon imidazole.

[Fe((R,R)alamp)]

Conditions de mesure

1.12 T = 25°C Tampon imidazole [Im]<sub>0</sub> = 5,01 · 10<sup>-2</sup> M μ = 0,1  
(NaCl) [PCu(II)]<sub>0</sub> = 2,48 · 10<sup>-5</sup> M [Fe(II)]<sub>0</sub> = 4,02 · 10<sup>-3</sup> M  
[(R,R)alamp]<sub>0</sub> = 5,79 · 10<sup>-3</sup> M

| pH   | $[\text{Fe}(\text{R,R})\text{alamp}]_{\text{c}}$<br>$\cdot 10^{-3} \text{ M}$ | $k_{\text{obs}}$<br>$\text{s}^{-1}$ |
|------|-------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|
| 7,02 | 1,08                                                                          | 82,63                               |
|      | 0,86                                                                          | 66,58                               |
|      | 0,75                                                                          | 57,58                               |
|      | 0,65                                                                          | 47,83                               |
|      | 0,43                                                                          | 33,02                               |
|      | 0,27                                                                          | 19,94                               |
|      | 0,21                                                                          | 15,46                               |

$[\text{Fe}((\text{S,S})\text{alamp})]$

1.13  $T = 25^{\circ}\text{C}$  Tampon imidazole  $[\text{Im}]_0 = 5,01 \cdot 10^{-2} \text{ M}$   $\mu = 0,1$   
 $(\text{NaCl})$   $[\text{PCu}(\text{II})]_0 = 2,48 \cdot 10^{-5} \text{ M}$   $[\text{Fe}(\text{II})]_0 = 4,0 \cdot 10^{-3} \text{ M}$   
 $[(\text{S,S})\text{alamp}]_0 = 5,75 \cdot 10^{-3} \text{ M}$

| pH   | $[\text{Fe}((\text{S,S})\text{alamp})]_{\text{c}}$<br>$\cdot 10^{-3} \text{ M}$ | $k_{\text{obs}}$<br>$\text{s}^{-1}$ |
|------|---------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|
| 7,02 | 1,08                                                                            | 48,55                               |
|      | 0,86                                                                            | 34,40                               |
|      | 0,75                                                                            | 33,55                               |
|      | 0,65                                                                            | 25,45                               |
|      | 0,43                                                                            | 17,50                               |
|      | 0,27                                                                            | 9,15                                |
|      | 0,21                                                                            | 7,97                                |

Constantes de vitesses pour la réduction de PCu(II) par  
[Fe(valmp)] dans un tampon phosphate.

[Fe((R,R)valmp)]

Conditions de mesure

1.14 T = 25°C Tampon phosphate  $\mu = 0,1$  (tampon phosphate)  
 $\lambda = 597 \text{ nm}$  [PCu(II)]<sub>0</sub> =  $2,14 \cdot 10^{-5} \text{ M}$  [Fe(II)]<sub>0</sub> =  $2,67 \cdot 10^{-3} \text{ M}$   
[(R,R)valmp]<sub>0</sub> =  $3,03 \cdot 10^{-3} \text{ M}$

| pH   | [Fe(R,R)valmp] <sub>c</sub><br>· 10 <sup>-3</sup> M | k <sub>obs</sub><br>s <sup>-1</sup> |
|------|-----------------------------------------------------|-------------------------------------|
| 7,01 | 1,33                                                | 18,46                               |
|      | 1,07                                                | 14,28                               |
|      | 0,80                                                | 10,39                               |
|      | 0,66                                                | 8,99                                |
|      | 0,53                                                | 7,05                                |
|      | 0,37                                                | 4,30                                |
|      | 0,27                                                | 2,36                                |

[Fe((S,S)valmp)]

Conditions de mesure

1.15 T = 25°C Tampon phosphate  $\mu = 0,1$  (tampon phosphate)  
 $\lambda = 597 \text{ nm}$  [PCu(II)]<sub>0</sub> =  $2,14 \cdot 10^{-5} \text{ M}$  [Fe(II)]<sub>0</sub> =  $2,66 \cdot 10^{-3} \text{ M}$   
[(S,S)valmp]<sub>0</sub> =  $3,0 \cdot 10^{-3} \text{ M}$

| pH   | $[\text{Fe}((\text{S},\text{S})\text{valmp})]_{\text{C}}$<br>$\cdot 10^{-3} \text{ M}$ | $k_{\text{obs}}$<br>$\text{s}^{-1}$ |
|------|----------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|
| 7,01 | 1,33                                                                                   | 16,19                               |
|      | 1,06                                                                                   | 12,48                               |
|      | 0,79                                                                                   | 9,31                                |
|      | 0,66                                                                                   | 7,93                                |
|      | 0,53                                                                                   | 6,35                                |
|      | 0,37                                                                                   | 4,19                                |
|      | 0,26                                                                                   | 1,77                                |

Constantes de vitesses pour la réduction de PCu(II) par [Fe(promp)] dans un tampon phosphate.

[Fe((R,R)promp)]

Conditions de mesure

1.16 T = 25°C Tampon phosphate  $\mu = 0,1$  (tampon phosphate)  
 $\lambda = 597 \text{ nm}$   $[\text{PCu(II)}]_0 = 2,60 \cdot 10^{-5} \text{ M}$   $[\text{Fe(II)}]_0 = 2,42 \cdot 10^{-3} \text{ M}$   
 $[(\text{R},\text{R})\text{promp}]_0 = 2,54 \cdot 10^{-3} \text{ M}$

| pH   | $[\text{Fe}((\text{R},\text{R})\text{promp})]_{\text{C}}$<br>$\cdot 10^{-3} \text{ M}$ | $k_{\text{obs}}$<br>$\text{s}^{-1}$ |
|------|----------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|
| 7,00 | 1,17                                                                                   | 14,60                               |
|      | 0,94                                                                                   | 10,40                               |
|      | 0,70                                                                                   | 7,96                                |
|      | 0,58                                                                                   | 6,38                                |
|      | 0,47                                                                                   | 4,21                                |
|      | 0,33                                                                                   | 2,65                                |
|      | 0,23                                                                                   | 1,26                                |

1.17 T = 25°C Tampon phosphate  $\mu = 0,1$  (tampon phosphate)  
 $\lambda = 597 \text{ nm}$   $[\text{PCu(II)}]_0 = 2,40 \cdot 10^{-5} \text{ M}$   $[\text{Fe(II)}]_0 = 2,72 \cdot 10^{-3} \text{ M}$   
 $[(\text{R,R})\text{promp}]_0 = 2,63 \cdot 10^{-3} \text{ M}$

| pH   | $[\text{Fe}(\text{R,R})\text{promp}]_C$<br>$\cdot 10^{-3} \text{ M}$ | $k_{\text{obs}}$<br>$\text{s}^{-1}$ |
|------|----------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|
| 7,01 | 1,21                                                                 | 17,62                               |
|      | 0,97                                                                 | 13,45                               |
|      | 0,73                                                                 | 9,89                                |
|      | 0,34                                                                 | 4,55                                |
|      | 0,24                                                                 | 2,89                                |

$[\text{Fe}((\text{S,S})\text{promp})]$

Conditions de mesure

1.18 T = 25°C Tampon phosphate  $\mu = 0,1$  (tampon phosphate)  
 $\lambda = 597 \text{ nm}$   $[\text{PCu(II)}]_0 = 2,60 \cdot 10^{-5} \text{ M}$   $[\text{Fe(II)}]_0 = 2,50 \cdot 10^{-3} \text{ M}$   
 $[(\text{S,S})\text{promp}]_0 = 2,60 \cdot 10^{-3} \text{ M}$

| pH   | $[\text{Fe}((\text{S,S})\text{promp})]_C$<br>$\cdot 10^{-3} \text{ M}$ | $k_{\text{obs}}$<br>$\text{s}^{-1}$ |
|------|------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|
| 7,01 | 1,21                                                                   | 19,60                               |
|      | 0,97                                                                   | 14,84                               |
|      | 0,73                                                                   | 11,27                               |
|      | 0,61                                                                   | 8,75                                |
|      | 0,49                                                                   | 6,35                                |
|      | 0,34                                                                   | 3,94                                |
|      | 0,24                                                                   | 2,30                                |

1.19 T = 25°C Tampon phosphate  $\mu = 0,1$  (tampon phosphate)  
 $\lambda = 597 \text{ nm}$   $[\text{PCu(II)}]_0 = 2,40 \cdot 10^{-3} \text{ M}$   $[\text{Fe(II)}]_0 = 2,49 \cdot 10^{-3} \text{ M}$   
 $[(\text{S,S})\text{promp}]_0 = 2,69 \cdot 10^{-3} \text{ M}$

| pH   | [Fe(S,S)promp]<br>. $10^{-3}$ M | $k_{\text{obs}}$<br>$\text{s}^{-1}$ |
|------|---------------------------------|-------------------------------------|
| 7,00 | 1,21                            | 24,41                               |
|      | 0,97                            | 17,81                               |
|      | 0,73                            | 12,88                               |
|      | 0,34                            | 5,73                                |
|      | 0,24                            | 3,70                                |

Constantes de vitesses pour la réduction de PCu(II) par [Fe(alamp)] en présence de  $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$

[Fe((R,R)alamp)]

Conditions de mesure

1.20 T = 25°C Tampon phosphate pH = 7,05  $\mu = 0,1$  (tampon phosphate)  $\lambda = 597 \text{ nm}$   $[\text{PCu(II)}]_0 = 3,0 \cdot 10^{-5} \text{ M}$   
 $[\text{Fe(II)}]_0 = 3,47 \cdot 10^{-3} \text{ M}$   $[(\text{R,R})\text{alamp}]_0 = 4,51 \cdot 10^{-3} \text{ M}$   
 $[\text{Fe(R,R)alamp}]_c = 0,69 \cdot 10^{-3} \text{ M}$   $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_3]_0 = 2,29 \cdot 10^{-2} \text{ M}$   
 Les solutions pour la réaction sont préparées en prenant 10 ml de la solution de complexe puis on ajoute un volume variant de 1 à 5 ml d'inhibiteur, le tout amené à un volume de 25 ml avec le tampon phosphate.

| [Inhib] <sub>c</sub><br>. $10^{-4}$ M | $k_{\text{obs}}$<br>$\text{s}^{-1}$ |
|---------------------------------------|-------------------------------------|
| ----                                  | 28,49                               |
| 3,81                                  | 29,06                               |
| 7,62                                  | 29,47                               |
| 11,44                                 | 29,69                               |
| 15,26                                 | 29,53                               |
| 19,06                                 | 30,12                               |
| 22,88                                 | 29,87                               |

[Fe((S,S)alamp)]

1.21 T = 25°C Tampon phosphate pH = 7,03  $\mu$  = 0,1 (tampon phosphate)  $\lambda$  = 597 nm [PCu(II)]<sub>0</sub> = 3,0.10<sup>-5</sup> M  
 [Fe(II)]<sub>0</sub> = 3,48.10<sup>-3</sup> M [(S,S)alamp]<sub>0</sub> = 4,43.10<sup>-3</sup> M  
 [Fe(S,S)alamp]<sub>C</sub> = 0,70.10<sup>-4</sup> M [Co(NH<sub>3</sub>)<sub>6</sub>]Cl<sub>3</sub>]<sub>0</sub> = 2,29.10<sup>-2</sup> M

| [Inhib] <sub>C</sub><br>.10 <sup>-4</sup> M | k <sub>obs</sub><br>s <sup>-1</sup> |
|---------------------------------------------|-------------------------------------|
|---------------------------------------------|-------------------------------------|

|       |       |
|-------|-------|
| ---   | 11,81 |
| 0,20  | 14,15 |
| 1,02  | 14,48 |
| 3,81  | 14,93 |
| 7,62  | 14,98 |
| 11,44 | 14,99 |
| 15,26 | 15,12 |
| 19,06 | 14,92 |
| 22,88 | 14,58 |

Constantes de vitesses pour la réduction de PCu(II) par  
[Fe(alamp)] en présence de [CO<sub>2</sub>(NH<sub>2</sub>)(NH<sub>3</sub>)<sub>10</sub>]Br<sub>5</sub>

[Fe(R,R)alamp]

Conditions de mesure

1.22 T = 25°C Tampon phosphate pH = 7,02  $\mu$  = 0,1 (tampon phosphate)  $\lambda$  = 597 nm [PCu(II)]<sub>0</sub> = 3,0.10<sup>-5</sup> M  
 [Fe(II)]<sub>0</sub> = 3,40.10<sup>-3</sup> M [(R,R)alamp]<sub>0</sub> = 4,38.10<sup>-3</sup> M  
 [Fe(R,R)alamp]<sub>C</sub> = 6,96.10<sup>-4</sup> M [Inhib]<sub>0</sub> = 1,86.10<sup>-3</sup> M

| $[\text{Inhib}]_C$<br>$\cdot 10^{-4} \text{ M}$ | $k_{\text{obs}}$<br>$\text{s}^{-1}$ |
|-------------------------------------------------|-------------------------------------|
| ---                                             | 24,48                               |
| 0,31                                            | 26,26                               |
| 0,62                                            | 25,28                               |
| 1,24                                            | 25,64                               |
| 1,86                                            | 21,52                               |

Les solutions d'inhibiteur sont préparées comme précédemment (cinétique 1.20).

1.23 T = 25°C Tampon phosphate pH = 7,05  $\mu = 0,1$  (tampon phosphate)  $\lambda = 597 \text{ nm}$   $[\text{PCu(II)}]_0 = 3,0 \cdot 10^{-5} \text{ M}$   
 $[\text{Fe(II)}]_0 = 3,40 \cdot 10^{-3} \text{ M}$   $[(\text{R,R})\text{alamp}]_0 = 4,38 \cdot 10^{-3} \text{ M}$   
 $[\text{Fe(R,R)alamp}]_C = 6,96 \cdot 10^{-4} \text{ M}$   $[\text{Inhib}]_0 = 1,52 \cdot 10^{-3} \text{ M}$

| $[\text{Inhib}]_C$<br>$\cdot 10^{-4} \text{ M}$ | $k_{\text{obs}}$<br>$\text{s}^{-1}$ |
|-------------------------------------------------|-------------------------------------|
| ---                                             | 26,39                               |
| 0,23                                            | 25,19                               |
| 0,45                                            | 25,67                               |
| 0,76                                            | 27,18                               |
| 1,24                                            | 24,68                               |
| 1,52                                            | 28,14                               |

$[\text{Fe(S,S)alamp}]$

Conditions de mesure

1.24 T = 25°C Tampon phosphate pH = 7,02  $\mu = 0,1$  (tampon phosphate)  $\lambda = 597 \text{ nm}$   $[\text{PCu(II)}]_0 = 3,0 \cdot 10^{-5} \text{ M}$   
 $[\text{Fe(II)}]_0 = 3,41 \cdot 10^{-3} \text{ M}$   $[(\text{S,S})\text{alamp}]_0 = 4,14 \cdot 10^{-3} \text{ M}$   
 $[\text{Fe(S,S)alamp}]_C = 6,96 \cdot 10^{-4} \text{ M}$   $[\text{Inhib}]_0 = 1,86 \cdot 10^{-3} \text{ M}$

| $[\text{Inhib}]_C$<br>$\cdot 10^{-4} \text{ M}$ | $k_{\text{obs}}$<br>$\text{s}^{-1}$ |
|-------------------------------------------------|-------------------------------------|
| ---                                             | 16,19                               |
| 0,31                                            | 15,23                               |
| 0,62                                            | 14,51                               |
| 1,24                                            | 13,18                               |
| 1,86                                            | 10,17                               |

1.25  $T = 25^\circ\text{C}$  Tampon phosphate,  $\text{pH} = 7,05$   $\mu = 0,1$  (tampon phosphate)  $\lambda = 597 \text{ nm}$   $[\text{PCu(II)}]_0 = 3,0 \cdot 10^{-5} \text{ M}$   
 $[\text{Fe(II)}]_0 = 3,68 \cdot 10^{-3} \text{ M}$   $[(\text{S,S})\text{alamp}]_0 = 4,45 \cdot 10^{-3} \text{ M}$   
 $[\text{Fe(S,S)alamp}]_C = 7,00 \cdot 10^{-4} \text{ M}$   $[\text{Inhib}]_0 = 1,52 \cdot 10^{-3} \text{ M}$

| $[\text{Inhib}]_C$<br>$\cdot 10^{-4} \text{ M}$ | $k_{\text{obs}}$<br>$\text{s}^{-1}$ |
|-------------------------------------------------|-------------------------------------|
| ---                                             | 15,93                               |
| 0,23                                            | 13,89                               |
| 0,45                                            | 13,77                               |
| 0,76                                            | 13,73                               |
| 1,24                                            | 12,90                               |
| 1,52                                            | 12,50                               |

## Annexe 2

### Détermination des paramètres énergétiques pour la réduction de PCu(II) par [Fe(glymp)] dans un tampon phosphate

Conditions de mesure

2.1 pH = 6,85     $\mu$  = 0,1 (tampon phosphate)

$[\text{PCu(II)}]_0 = 3,59 \cdot 10^{-5} \text{ M}$      $[\text{Fe(II)}]_0 = 1,92 \cdot 10^{-3} \text{ M}$

$[\text{glymp}]_0 = 2,32 \cdot 10^{-3} \text{ M}^a$      $[\text{Fe(glymp)}]_C = 0,94 \cdot 10^{-3} \text{ M}$

<sup>a</sup>: concentration déterminée par titration acidimétrique et par titration spectrophotométrique avec le  $\text{Cu}^{2+}$ .

| T<br>K | $k_{\text{obs}}$<br>$\text{s}^{-1}$ |
|--------|-------------------------------------|
| 278    | 23,28                               |
| 283    | 30,97                               |
| 288    | 36,44                               |
| 293    | 42,77                               |
| 298    | 49,37                               |
| 303    | 61,51                               |
| 310,6  | 79,26                               |
| 318    | 100,90                              |

Les constantes de vitesse observées correspondent à la valeur moyenne de six injections. Les erreurs sur les constantes de vitesse observées sont inférieures à 7 % pour toutes les cinétiques décrites dans cette annexe.

Détermination des paramètres énergétiques pour la réduction de PCu(II) par [Fe(alamp)] dans un tampon phosphate.

[Fe(R,R)alamp]

Conditions de mesure

2.2 pH = 7,03  $\mu = 0,1$  (tampon phosphate)

[PCu(II)]<sub>0</sub> =  $1,83 \cdot 10^{-5}$  M [Fe(II)]<sub>0</sub> =  $2,84 \cdot 10^{-3}$  M

[(R,R)alamp]<sub>0</sub> =  $3,24 \cdot 10^{-3}$  M [Fe(R,R)alamp]<sub>C</sub> =  $1,42 \cdot 10^{-3}$  M

| T<br>K | k <sub>obs</sub><br>s <sup>-1</sup> |
|--------|-------------------------------------|
| 283    | 38,65                               |
| 288    | 50,47                               |
| 293    | 54,09                               |
| 308    | 73,61                               |

2.3 pH = 7,02  $\mu = 0,1$  (tampon phosphate)

[PCu(II)]<sub>0</sub> =  $2,29 \cdot 10^{-5}$  M [Fe(II)]<sub>0</sub> =  $2,90 \cdot 10^{-3}$  M

[(R,R)alamp]<sub>0</sub> =  $3,27 \cdot 10^{-3}$  M [Fe(R,R)alamp]<sub>C</sub> =  $1,45 \cdot 10^{-3}$  M

| T<br>K | k <sub>obs</sub><br>s <sup>-1</sup> |
|--------|-------------------------------------|
| 283    | 39,56                               |
| 288    | 45,13                               |
| 293    | 53,17                               |
| 303    | 69,10                               |
| 305    | 78,31                               |

2.4 pH = 7,06  $\mu$  = 0,1 (tampon phosphate)

$[\text{PCu(II)}]_0 = 1,02 \cdot 10^{-5} \text{ M}$   $[\text{Fe(II)}]_0 = 2,93 \cdot 10^{-3} \text{ M}$

$[(\text{R,R})\text{alamp}]_0 = 3,73 \cdot 10^{-3} \text{ M}$   $[\text{Fe(R,R)alamp}]_c = 1,47 \cdot 10^{-3} \text{ M}$

| T<br>K | $k_{\text{obs}}$<br>$\text{s}^{-1}$ |
|--------|-------------------------------------|
| 283    | 36,18                               |
| 288    | 52,85                               |
| 293    | 64,59                               |
| 295,6  | 68,29                               |
| 303    | 87,01                               |
| 308    | 93,57                               |

$[\text{Fe(S,S)alamp}]$

Conditions de mesure

2.5 pH = 7,03  $\mu$  = 0,1 (tampon phosphate)

$[\text{PCu(II)}]_0 = 1,83 \cdot 10^{-5} \text{ M}$   $[\text{Fe(II)}]_0 = 2,88 \cdot 10^{-3} \text{ M}$

$[(\text{S,S})\text{alamp}]_0 = 3,29 \cdot 10^{-3} \text{ M}$   $[\text{Fe(S,S)alamp}]_c = 1,44 \cdot 10^{-3} \text{ M}$

| T<br>K | $k_{\text{obs}}$<br>$\text{s}^{-1}$ |
|--------|-------------------------------------|
| 283    | 24,80                               |
| 288    | 28,44                               |
| 293    | 29,17                               |
| 303    | 39,09                               |
| 308    | 43,54                               |

2.6 pH = 7,02  $\mu$  = 0,1 (tampon phosphate)

$[\text{PCu(II)}]_0 = 2,29 \cdot 10^{-5} \text{ M}$   $[\text{Fe(II)}]_0 = 2,87 \cdot 10^{-3} \text{ M}$

$[(\text{S,S})\text{alamp}]_0 = 3,31 \cdot 10^{-3} \text{ M}$   $[\text{Fe(S,S)alamp}]_c = 1,44 \cdot 10^{-3} \text{ M}$

| T<br>K | k <sub>obs</sub><br>s <sup>-1</sup> |
|--------|-------------------------------------|
| 283    | 23,45                               |
| 288    | 28,62                               |
| 293    | 30,78                               |
| 303    | 39,28                               |
| 308    | 44,14                               |

2.7 pH = 7,06    μ = 0,1 (tampon phosphate)

[PCu(II)]<sub>0</sub> = 1,02.10<sup>-5</sup> M    [Fe(II)]<sub>0</sub> = 2,57.10<sup>-3</sup> M

[(S,S)alamp]<sub>0</sub> = 3,33.10<sup>-3</sup> M    [Fe(S,S)alamp]<sub>c</sub> = 1,29.10<sup>-3</sup> M

| T<br>K | k <sub>obs</sub><br>s <sup>-1</sup> |
|--------|-------------------------------------|
| 283    | 23,66                               |
| 288    | 30,69                               |
| 293    | 36,05                               |
| 295,6  | 39,58                               |
| 303    | 45,25                               |
| 308    | 53,56                               |

Détermination des paramètres énergétiques pour la  
réduction de PCu(II) par [Fe(valmp)] dans un tampon  
phosphate

[Fe(R,R)valmp]

Conditions de mesure

2.8 pH = 7,0    μ = 0,1 (tampon phosphate)

[PCu(II)]<sub>0</sub> = 3,20.10<sup>-5</sup> M    [Fe(II)]<sub>0</sub> = 2,17.10<sup>-3</sup> M

[(R,R)valmp]<sub>0</sub> = 2,55.10<sup>-3</sup> M    [Fe(R,R)valmp]<sub>c</sub> = 1,09.10<sup>-3</sup> M

| T<br>K | $k_{\text{obs}}$<br>$\text{s}^{-1}$ |
|--------|-------------------------------------|
| 283    | 5,27                                |
| 288    | 7,02                                |
| 293    | 9,30                                |
| 298    | 12,75                               |
| 303    | 16,36                               |
| 308    | 20,85                               |

[Fe(S,S)valmp]

Conditions de mesure

2.9 pH = 7,0  $\mu = 0,1$  (tampon phosphate)

$[\text{PCu(II)}]_0 = 3,2 \cdot 10^{-5} \text{ M}$   $[\text{Fe(II)}]_0 = 2,18 \cdot 10^{-3} \text{ M}$

$[(\text{S,S})\text{valmp}]_0 = 2,50 \cdot 10^{-3} \text{ M}$   $[\text{Fe(S,S)valmp}]_c = 1,09 \cdot 10^{-3} \text{ M}$

| T<br>K | $k_{\text{obs}}$<br>$\text{s}^{-1}$ |
|--------|-------------------------------------|
| 283    | 4,18                                |
| 288    | 7,51                                |
| 293    | 8,61                                |
| 298    | 11,33                               |
| 303    | 14,78                               |
| 308    | 18,53                               |

Détermination des paramètres énergétiques pour la réduction de PCu(II) par [Fe(promp)] dans un tampon phosphate.

[Fe(R,R)promp]

Conditions de mesure

2.10 pH = 6,98  $\mu = 0,1$  (tampon phosphate)

[PCu(II)]<sub>0</sub> =  $2,84 \cdot 10^{-5}$  M [Fe(II)]<sub>0</sub> =  $1,90 \cdot 10^{-3}$  M

[(R,R)promp]<sub>0</sub> =  $2,35 \cdot 10^{-3}$  M [Fe(R,R)promp]<sub>C</sub> =  $0,90 \cdot 10^{-3}$  M

| T   | k <sub>obs</sub> |
|-----|------------------|
| K   | s <sup>-1</sup>  |
| 278 | 3,08             |
| 283 | 6,10             |
| 288 | 8,14             |
| 293 | 10,81            |
| 298 | 12,94            |
| 303 | 15,54            |
| 313 | 23,33            |
| 323 | 34,36            |

2.11 pH = 7,03  $\mu = 0,1$  (tampon phosphate)

[PCu(II)]<sub>0</sub> =  $2,58 \cdot 10^{-5}$  M [Fe(II)]<sub>0</sub> =  $1,90 \cdot 10^{-3}$  M

[(R,R)promp]<sub>0</sub> =  $2,41 \cdot 10^{-3}$  M [Fe(R,R)promp]<sub>C</sub> =  $0,89 \cdot 10^{-3}$  M

| T<br>K | k <sub>obs</sub><br>s <sup>-1</sup> |
|--------|-------------------------------------|
| 278    | 3,81                                |
| 283    | 5,04                                |
| 288    | 6,79                                |
| 293    | 8,65                                |
| 298    | 10,93                               |
| 303    | 13,13                               |
| 310,6  | 17,50                               |
| 318    | 21,76                               |

[Fe(S,S)promp]

Conditions de mesure

2.12 pH = 6,92    μ = 0,1 (tampon phosphate)

[PCu(II)]<sub>0</sub> = 2,84.10<sup>-5</sup> M    [Fe(II)]<sub>0</sub> = 1,90.10<sup>-3</sup> M

[(S,S)promp]<sub>0</sub> = 2,37.10<sup>-3</sup> M    [Fe(S,S)promp]<sub>C</sub> = 0,91.10<sup>-3</sup> M

| T<br>K | k <sub>obs</sub><br>s <sup>-1</sup> |
|--------|-------------------------------------|
| 278    | 4,80                                |
| 283    | 7,62                                |
| 288    | 11,19                               |
| 293    | 14,21                               |
| 298    | 17,26                               |
| 303    | 20,22                               |
| 313    | 29,75                               |
| 323    | 41,54                               |

2.13 pH = 7,03  $\mu$  = 0,1 (tampon phosphate)

$[\text{PCu(II)}]_0 = 2,58 \cdot 10^{-5} \text{ M}$   $[\text{Fe(II)}]_0 = 1,89 \cdot 10^{-3} \text{ M}$

$[(\text{S,S})\text{promp}]_0 = 2,40 \cdot 10^{-3} \text{ M}$   $[\text{Fe}(\text{S,S})\text{promp}]_c = 0,89 \cdot 10^{-3} \text{ M}$

| T<br>K | $k_{\text{obs}}$<br>$\text{s}^{-1}$ |
|--------|-------------------------------------|
| 278    | 4,65                                |
| 283    | 7,05                                |
| 288    | 9,30                                |
| 293    | 10,76                               |
| 298    | 14,07                               |
| 303    | 16,85                               |
| 310,6  | 21,39                               |
| 318    | 27,47                               |

### Annexe 3

#### Constantes de vitesse pour la réduction de PCu(II) par [Co(alamp)] dans un tampon phosphate.

##### [Co((R,R)alamp)]

##### Conditions de mesure

3.1 T = 25°C Tampon phosphate pH = 7,03  $\mu$  = 0,1 (tampon phosphate) [PCu(II)]<sub>0</sub> = 3,2.10<sup>-5</sup> M. Les concentrations initiales de coblat(II) et de (R,R)alamp varient d'une mesure à l'autre. Le ligand est toujours en excès d'environ 20 % par rapport au métal. Les concentrations en complexes que nous indiquons ci-dessous correspondent à celles calculées avec le programme EQUILIBRE. Les constantes de vitesse indiquées correspondent à la moyenne de trois injections au minimum.

| [Co(R,R)alamp] <sub>c</sub><br>.10 <sup>-3</sup> M | k <sub>obs</sub><br>.10 <sup>-3</sup> s <sup>-1</sup> |
|----------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|
| 0,40                                               | 1,22                                                  |
| 0,60                                               | 1,70                                                  |
| 1,50                                               | 3,59                                                  |
| 2,24                                               | 4,01                                                  |
| 3,07                                               | 6,89                                                  |

3.2 T = 25°C Tampon phosphate pH = 7,02  $\mu$  = 0,1 (tampon phosphate) [PCu(II)]<sub>0</sub> = 3,1.10<sup>-5</sup> M

| [Co(R,R)alamp] <sub>c</sub><br>.10 <sup>-3</sup> M | k <sub>obs</sub><br>.10 <sup>-3</sup> s <sup>-1</sup> |
|----------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|
| 2,08                                               | 2,86                                                  |
| 2,97                                               | 4,20                                                  |

[Co(S,S)alamp]

Conditions de mesure

3.3 T = 25°C Tampon phosphate pH = 7,03  $\mu$  = 0,1 (tampon phosphate) [PCu(II)]<sub>0</sub> = 3,2.10<sup>-5</sup> M

| [Co(S,S)alamp] <sub>C</sub><br>.10 <sup>-3</sup> M | k <sub>obs</sub><br>.10 <sup>-3</sup> s <sup>-1</sup> |
|----------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|
| 0,24                                               | 0,93                                                  |
| 0,59                                               | 2,04                                                  |
| 1,48                                               | 4,32                                                  |
| 2,26                                               | 4,45                                                  |
| 2,92                                               | 7,98                                                  |

3.4 T = 25°C Tampon phosphate pH = 7,02  $\mu$  = 0,1 (tampon phosphate) [PCu(II)]<sub>0</sub> = 3,1.10<sup>-5</sup> M

| [Co(S,S)alamp] <sub>C</sub><br>.10 <sup>-3</sup> M | k <sub>obs</sub><br>.10 <sup>-3</sup> s <sup>-1</sup> |
|----------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|
| 1,77                                               | 3,76                                                  |
| 2,95                                               | 5,81                                                  |
| 2,96                                               | 5,91                                                  |

Détermination des paramètres énergétiques pour la réduction de PCu(II) par [Co(R,R)alamp] dans un tampon phosphate

[Co(R,R)alamp]

Conditions de mesure

3.5 Tampon phosphate pH = 6,98  $\mu = 0,1$  (tampon phosphate)  
 $[PCu(II)]_0 = 4,47 \cdot 10^{-5} \text{ M}$

| T   | $[Co(II)]_0$              | $[(R,R)alamp]_0$          | $[Co(R,R)alamp]_C$        | $k_{obs}$                      |
|-----|---------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------------|
| K   | $\cdot 10^{-3} \text{ M}$ | $\cdot 10^{-3} \text{ M}$ | $\cdot 10^{-3} \text{ M}$ | $\cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ |
| 278 | 2,60                      | 3,60                      | 1,30                      | 0,36                           |
| 283 | 2,60                      | 3,60                      | 1,30                      | 0,52                           |
| 288 | 2,64                      | 3,66                      | 1,32                      | 0,63                           |
| 293 | 2,64                      | 3,66                      | 1,32                      | 1,24                           |

3.6 Tampon phosphate pH = 7,00  $\mu = 0,1$  (tampon phosphate)  
 $[PCu(II)]_0 = 4,47 \cdot 10^{-5} \text{ M}$

| T     | $[Co(II)]_0$              | $[(R,R)alamp]_0$          | $[Co(R,R)alamp]_C$        | $k_{obs}$                      |
|-------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------------|
| K     | $\cdot 10^{-3} \text{ M}$ | $\cdot 10^{-3} \text{ M}$ | $\cdot 10^{-3} \text{ M}$ | $\cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ |
| 288   | 2,47                      | 4,08                      | 1,24                      | 0,68                           |
|       | 2,60                      | 3,60                      | 1,30                      | 0,95                           |
| 295,6 | 2,60                      | 3,60                      | 1,30                      | 1,52                           |
| 303   | 2,60                      | 3,60                      | 1,30                      | 3,06                           |

[Co(S,S)alamp]

3.7 Tampon phosphate pH = 7,00  $\mu = 0,1$  (tampon phosphate)  
 $[PCu(II)]_0 = 4,14 \cdot 10^{-5} \text{ M}$

| T<br>K | [Co(II)] <sub>0</sub><br>.10 <sup>-3</sup> M | [(S,S)alamp] <sub>0</sub><br>.10 <sup>-3</sup> M | [Co(S,S)alamp] <sub>c</sub><br>.10 <sup>-3</sup> M | k <sub>obs</sub><br>.10 <sup>-3</sup> s <sup>-1</sup> |
|--------|----------------------------------------------|--------------------------------------------------|----------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|
| 278    | 2,54                                         | 3,21                                             | 1,27                                               | 1,17                                                  |
| 283    | 2,51                                         | 2,92                                             | 1,25                                               | 1,85                                                  |
| 290,6  | 2,51                                         | 2,92                                             | 1,25                                               | 2,65                                                  |
| 295,6  | 2,51                                         | 2,92                                             | 1,25                                               | 3,79                                                  |
| 300,6  | 2,59                                         | 3,06                                             | 1,29                                               | 4,62                                                  |
| 308    | 2,59                                         | 3,06                                             | 1,29                                               | 8,88                                                  |

#### Annexe 4

#### Constantes de vitesse pour la réduction de PCu(II) par [Co(alamp)] dans un tampon imidazole.

##### [Co(R,R)alamp]

Conditions de mesure

4.1 T = 25°C Tampon imidazole pH = 7,00  $\mu$  = 0,2 (NaCl)

[PCu(II)]<sub>0</sub> = 2,46.10<sup>-5</sup> M

Les concentrations initiales de cobalt(II) et de (R,R)alamp sont d'environ 2.10<sup>-3</sup> M et de 2,4.10<sup>-3</sup> M respectivement, et ceci pour toutes les concentrations différentes d'imidazole. Les erreurs sur les constantes de vitesse observées sont inférieures à 7 % pour toutes les séries de mesure effectuées. Chaque valeur de k<sub>obs</sub> représente la moyenne de trois injections au minimum.

| [Im] <sub>C</sub><br>.10 <sup>-3</sup> M | [Co(R,R)alamp] <sub>C</sub><br>.10 <sup>-3</sup> M | k <sub>obs</sub><br>s <sup>-1</sup> |
|------------------------------------------|----------------------------------------------------|-------------------------------------|
| 2,05                                     | 0,99                                               | 0,087                               |
| 3,09                                     | 0,98                                               | 0,134                               |
| 5,01                                     | 1,03                                               | 0,228                               |
| 6,02                                     | 1,04                                               | 0,258                               |
| 8,03                                     | 1,01                                               | 0,331                               |
| 10,24                                    | 0,97                                               | 0,353                               |
| 14,79                                    | 1,00                                               | 0,434                               |
| 25,32                                    | 1,00                                               | 0,595                               |
| 41,24                                    | 1,03                                               | 0,675                               |

[Co(S,S)alamp]

4.2 T = 25°C Tampon imidazole pH = 7,00  $\mu$  = 0,2 (NaCl)

$$[\text{PCu(II)}]_0 = 2,46 \cdot 10^{-5} \text{ M}$$

Les remarques faite sous 4.1 sont également valables pour cette série de mesure.

| $[\text{Im}]_C$<br>$\cdot 10^{-3} \text{ M}$ | $[\text{Co(S,S)alamp}]_C$<br>$\cdot 10^{-3} \text{ M}$ | $k_{\text{obs}}$<br>$\text{s}^{-1}$ |
|----------------------------------------------|--------------------------------------------------------|-------------------------------------|
| 2,05                                         | 1,00                                                   | 0,070                               |
| 3,09                                         | 1,02                                                   | 0,105                               |
| 5,01                                         | 1,02                                                   | 0,174                               |
| 8,03                                         | 1,01                                                   | 0,243                               |
| 10,24                                        | 0,99                                                   | 0,290                               |
| 14,76                                        | 1,01                                                   | 0,387                               |
| 25,76                                        | 1,03                                                   | 0,510                               |
| 41,46                                        | 1,03                                                   | 0,530                               |

Détermination des paramètres énergétiques pour la réduction de PCu(II) par [Co(alamp)] dans un tampon imidazole.

[Co(R,R)alamp]

Conditions de mesure

4.3 Tampon imidazole  $[\text{Im}]_0 = 1,47 \cdot 10^{-2} \text{ M}$  pH = 6,98

$\mu$  = 0,2 (NaCl)  $[\text{PCu(II)}]_0 = 4,14 \cdot 10^{-5} \text{ M}$

$[\text{Co(II)}]_0 = 2,32 \cdot 10^{-3} \text{ M}$   $[(\text{R,R)alamp}]_0 = 3,18 \cdot 10^{-3} \text{ M}$

$[\text{Co(R,R)alamp}]_C = 1,16 \cdot 10^{-3} \text{ M}$

| T<br>K | k <sub>obs</sub><br>s <sup>-1</sup> |
|--------|-------------------------------------|
| 278    | 0,237                               |
| 283    | 0,289                               |
| 289,6  | 0,308                               |
| 295,6  | 0,370                               |
| 300,6  | 0,398                               |
| 308    | 0,454                               |
| 315,6  | 0,519                               |
| 320,6  | 0,567                               |

[Co(S,S)alamp]

Conditions de mesure

4.4 Tampon imidazole [Im]<sub>0</sub> = 1,47.10<sup>-2</sup> M pH = 6,98  
 $\mu$  = 0,2 (NaCl) [PCu(II)]<sub>0</sub> = 4,14.10<sup>-5</sup> M  
 [Co(II)]<sub>0</sub> = 2,02.10<sup>-3</sup> M [(S,S)alamp]<sub>0</sub> = 2,67.10<sup>-3</sup> M  
 [Co(S,S)alamp]<sub>C</sub> = 1,01.10<sup>-3</sup> M

| T<br>K | k <sub>obs</sub><br>s <sup>-1</sup> |
|--------|-------------------------------------|
| 279    | 0,172                               |
| 285    | 0,224                               |
| 290,6  | 0,263                               |
| 295,6  | 0,279                               |
| 300,6  | 0,294                               |
| 308    | 0,347                               |
| 318    | 0,403                               |