

UNIVERSITE DE NEUCHATEL  
FACULTE DES SCIENCES

**REACTIONS ENANTIOSELECTIVES  
DANS LES COMPLEXES MIXTES DU CUIVRE (II)  
AVEC DES BASES DE SCHIFF ET LA TRIAMINE  
BIS(PYRROLIDINYL-2)-2,6-PYRIDINE,  
UN NOUVEAU LIGAND TRIDENTE OPTIQUEMENT ACTIF**

*THESE PRESENTEE A LA FACULTE DES SCIENCES PAR*

**FRANÇOIS GRETILLAT**

*CHIMISTE DIPLOME DE L'UNIVERSITE DE NEUCHATEL  
POUR L'OBTENTION DU GRADE DE DOCTEUR ES SCIENCES*

INSTITUT DE CHIMIE  
DE L'UNIVERSITE DE  
NEUCHATEL

MARS 1990

# IMPRIMATUR POUR LA THÈSE

Réactions énantiosélectives dans les complexes mixtes du cuivre (II) avec des bases de Schiff et la triamine bis(pyrrolidinyl-2)-2,6-pyridine, un nouveau ligand tridenté optiquement actif

de Monsieur François Gretillat

UNIVERSITÉ DE NEUCHÂTEL

FACULTÉ DES SCIENCES

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

MM. et Mme les Professeurs K. Bernauer,

H. Stoeckli-Evans et R. Scheffold (Berne)

autorise l'impression de la présente thèse.

Neuchâtel, le 8 mai 1990

Le doyen:

  
Cl. Mermod

## REMERCIEMENTS

Ce travail a été effectué de novembre 1986 à décembre 1989, dans les laboratoires de chimie inorganique de l'université de Neuchâtel, sous la direction de Monsieur le professeur Klaus Bernauer.

Je tiens à exprimer tout d'abord ma reconnaissance à mon directeur de thèse, Monsieur le professeur Klaus Bernauer, de m'avoir accueilli dans son département, de ses conseils judicieux, de son soutien tout au long de ce travail et de sa gentillesse, ainsi que de m'avoir fait confiance en m'accordant un poste d'assistant.

Je remercie madame le professeur Helen Stoeckli-Evans pour les déterminations par diffraction des rayons-X et l'intérêt qu'elle a porté à ce travail, ainsi que d'avoir accepté de faire partie du jury de thèse.

Je remercie Monsieur le professeur R. Scheffold d'avoir accepté d'examiner ce travail en tant que membre du jury.

Je tiens également à remercier Sylviane Pierrehumbert pour son remarquable travail pratique, son dynamisme et la bonne humeur dont elle a toujours fait preuve.

Je remercie l'entreprise JPS pour sa collaboration lors de ce travail.

Je remercie également tous mes collègues du département inorganique pour les discussions intéressantes ainsi que pour leur joyeuse humeur.

Un grand merci à tous ceux qui n'ont pas été cités, et qui ont participé de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

Finalement, je remercie le "Stipendiefonds der Basler chemischen Industrie zur Unterstützung von Doktoranden auf dem Gebiete der Chemie" pour m'avoir accordé une bourse.

# TABLE DES MATIERES

1.	INTRODUCTION	
1.1	Généralités.....	1
1.2	Condensation de la glycine avec un aldéhyde.....	3
1.3	Transamination par la vitamine B <sub>6</sub> .....	11
2.	PRESENTATION DU TRAVAIL.....	14
3.	RESULTATS	
3.1	Synthèse de bis(pyrrolidinyl-2)-2,6-pyridine (bpp)...	17
3.2	Séparation de bpp-meso et dédoublement de bpp-rac....	19
3.3	Etude du système Cu <sup>2+</sup> + bpp en solution aqueuse.....	24
3.4	Formation et structure de [Cu(bpp)(H <sub>2</sub> O)](ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> .....	27
3.5	Synthèse de la thréonine.....	33
3.6	Synthèse de la sérine.....	42
3.7	Transamination du phénylpyruvate en phénylalanine....	47
3.8	Méthode d'analyse.....	62
4.	DISCUSSION	
4.1	Bis(pyrrolidinyl-2)-2,6-pyridine (bpp).....	71
4.2	Le complexe [Cu(bpp)] <sup>2+</sup> .....	73
4.3	Formation de la thréonine.....	78
4.4	Formation de la sérine.....	84
4.5	Transamination du phénylpyruvate en phénylalanine....	87
5.	PARTIE EXPERIMENTALE	
5.1	Appareillages utilisés.....	92
5.2	Synthèse de bis(dihydro-3,4-pyrrol-2H-yl-5)- 2,6-pyridine.....	92
5.3	Synthèse de bis(pyrrolidinyl-2)-2,6-pyridine (bpp)...	93
5.4	Synthèse de bis[N-(p-nitrobenzoyl)pyrrolidinyl-2]- 2,6-pyridine (bnpp).....	94
5.5	Différenciation de bnpp-meso et bnpp-rac.....	95
5.6	Séparation de bnpp-meso et bnpp-rac.....	95

5.7	Hydrolyse de bnpp en bpp.....	96
5.8	Dédoublément de bpp.....	96
5.9	Caractérisation de (+)bpp[(-)di-o,o'-p-toluyl-L-tartrate] <sub>2</sub> .....	97
5.10	Dérivation de bpp afin d'en déterminer la pureté optique.....	97
5.11	Titrations potentiométriques.....	98
5.12	Synthèse du complexe [Cu(bpp)(H <sub>2</sub> O)](ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> .....	98
5.13	Synthèse de ([Cu(+))bpp] <sub>3</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> (acide (-)di-o,o'-p-toluyl-L-tartrique) <sub>n</sub> .....	99
5.14	Synthèse de la thréonine.....	99
5.15	Synthèse de la sérine.....	100
5.16	Transamination du phénylpyruvate en phénylalanine...100	
5.17	Synthèse du α-(fluorényl-9)éthanol.....	101
5.18	Dédoublément du α-(fluorényl-9)éthanol.....	101
5.19	Hydrolyse du S(-)camphanate de (+)-α-(fluorényl-9)-éthyle.....	102
5.20	Synthèse du chloroformate de (+)-α-(fluorényl-9)-éthyle (FLEC).....	102
5.21	Synthèses de dérivés d'acides aminés par FLEC.....	103
5.22	Analyse des acides aminés par HPLC.....	103
5.23	Synthèse d'une phase de type Pirkle.....	104
6.	<b>RESUME.</b> .....	105
7.	<b>BIBLIOGRAPHIE.</b> .....	107

# 1. INTRODUCTION

## 1.1 GENERALITES

Lorsque l'on parle de systèmes vivants, que ce soit de bactéries, d'animaux ou d'hommes, on ne peut être que troublé, en constatant les similitudes qui existent au niveau moléculaire de tous ces organismes.

Effectivement, des fonctions aussi fondamentales que la transmission de l'information génétique, le stockage de l'énergie, ou encore la construction de macromolécules ont des caractéristiques communes, quelque soit l'organisme considéré.

Cela étant, une approche particulièrement intéressante des systèmes vivants, est l'étude des macromolécules, et plus particulièrement de celles qui sont désignées sous le nom de protéines.

Les protéines jouent un rôle fondamentale dans pratiquement tous les processus biologiques. Leurs fonctions sont extrêmement variées, et comprennent notamment la catalyse enzymatique, le transport et le stockage de petites molécules, la coordination des mouvements (muscles), ainsi que le support mécanique (peau), pour ne citer que les exemples les plus communs [1].

La plupart des réactions dans les systèmes biologiques, sont catalysées par des protéines appelées enzymes, et sont donc pour le chimiste d'un intérêt particulier.

Les enzymes ont une efficacité et une spécificité très supérieures à celles des systèmes catalytiques artificiels; effectivement, les transformations chimiques " in vivo " n'ont que très rarement lieu à une vitesse perceptible en l'absence d'enzymes.

Le mécanisme de l'activité enzymatique peut être décrit com-

me suit: l'enzyme et son substrat se combinent pour former un complexe "enzyme-substrat". A l'intérieur de ce complexe se produisent alors une série de réarrangements atomiques et électroniques; après cette évolution, le complexe se décompose, pour donner les produits de la réaction et régénérer l'enzyme libre. La réaction ainsi catalysée, ne modifie que les substrats; le rôle de l'enzyme est de fournir un environnement intramoléculaire favorisant une réaction, qui, sans cette protéine, nécessiterait la collision simultanée de plusieurs molécules. L'enzyme sert à combiner le substrat et ses propres groupes fonctionnels doués d'activité catalytique dans un assemblage géométrique qui favorise la réaction [2].

Les enzymes sont d'énormes molécules, mais les réactions qu'elles catalysent se déroulent à un endroit bien précis de l'enzyme; cet endroit est appelé communément site actif. Une particularité de certaines enzymes est de posséder un ion métallique, faisant très fréquemment partie du site actif. Et depuis environ une vingtaine d'années, des efforts considérables ont été faits dans le but de mieux connaître ces centres de réaction.

Pour le chimiste inorganicien, il s'agit là d'un domaine tout à fait particulier de la chimie de coordination, et par l'élaboration de modèles simplifiés correspondant le mieux à ce qui existe dans la nature, il lui est donné d'apporter une contribution à la connaissance toute particulière des systèmes vivants.

## 1.2 CONDENSATION DE LA GLYCINE AVEC UN ALDEHYDE

Lorsqu'un acide aminé est coordonné à un ion métallique, les principales réactions en milieu basique, sont:

- la racémisation
- la C-alkylation
- la N-alkylation

La racémisation provient du fait que l'hydrogène en  $\alpha$  de l'acide aminé est activé lorsque ce dernier est coordonné sur un ion métallique.

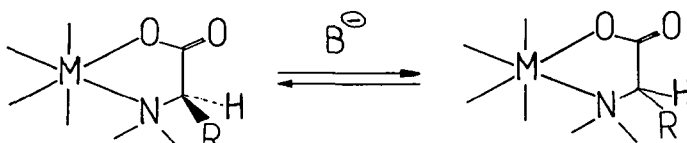


Fig. 1.1

La racémisation d'un acide aminé coordonné, en milieu basique.

La C-alkylation est due au même phénomène; simplement, en présence d'un agent électrophile tel qu'un aldéhyde, il y a possibilité de condensation entre l'acide aminé et le réactif.

Akabori fut le premier à étudier cette réaction. Il utilisa la glycine coordonnée sur le cuivre comme substrat, et l'aldéhyde acétique en tant qu'électrophile [3].

La réaction n'a cependant lieu qu'en milieu fortement basique et en présence d'un excès d'aldéhyde (fig. 1.2).

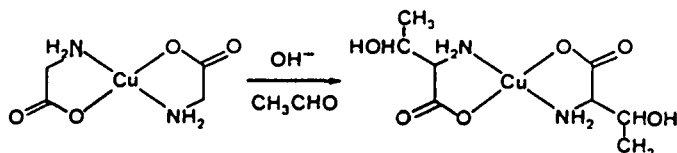


Fig. 1.2

La condensation de l'acétaldéhyde en milieu basique sur le complexe [Cu(gly)<sub>2</sub>].

La N-alkylation a notamment été observées lors d'études sur le mécanisme de la réaction décrite par *Akabori*.

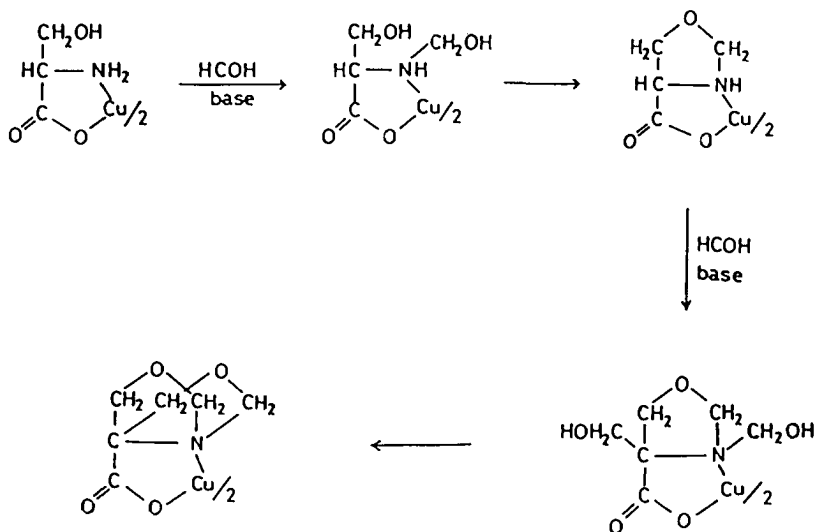


Fig. 1.3

Shéma de réaction proposé par *Teo et coll.*

A ce sujet, le travail de *Teo et coll.* [4] est révélateur.

En prenant la sérine coordonnée sur le cuivre comme substrat, et le formaldéhyde en tant qu'électrophile, ils mirent en évidence que la dissociation du proton du groupe amine était la première étape de la réaction (fig. 1.3).

En ce qui concerne le travail présent, nous nous intéressons particulièrement à la réaction décrite par *Akabori*.

Cette synthèse a été reprise par beaucoup de groupes de chercheurs. Dans la plupart des cas, le ion métallique employé est le cuivre, notamment pour les synthèses industrielles de la thréonine et de la sérine, qui sont l'objet de nombreux brevets [5,6]. Un fait remarquable est que dans certains cas, la quantité de cuivre engagée est plus petite que celle de sérine ou de thréonine récoltée: il y a donc une certaine catalyse par le ion métallique.

D'autres métaux ont été employés avec succès; et afin de mieux connaître certaines particularités de la réaction, des études ont été menées avec du Co(III) qui a l'avantage de former des complexes inertes, et donc de permettre l'isolation de certains intermédiaires.

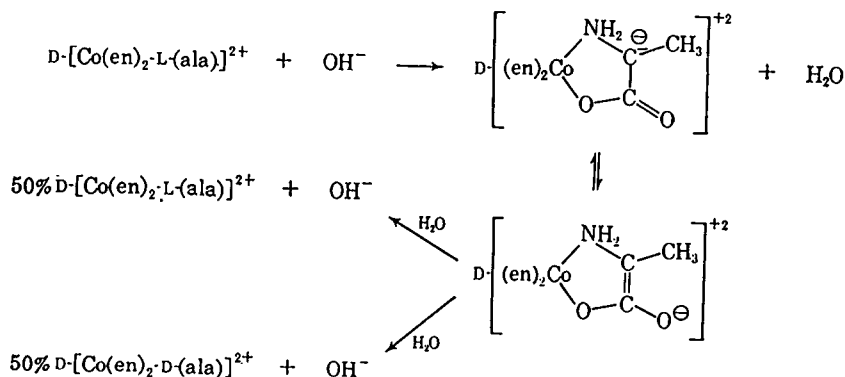


Fig. 1.4

Shéma de réaction proposé par D.A. Buckingham et coll.

D.A. Buckingham et coll. ont en effet observé la racémisation de l'acide aminé dans des complexes  $[\text{Co}^{\text{III}}(\text{éthylènediamine})_2(\text{acide aminé})]$  après avoir isolé ces composés [7]. Le mécanisme présenté sur la fig. 1.4 a été proposé.

D.W. Cook et coll. ont, quant à eux, étudié la stéréosélectivité lors de la réaction de condensation de l'acétaldéhyde sur des complexes  $[\text{Co}^{\text{III}}(\text{éthylènediamine})(\text{glycine})_2]$  en milieu basique après avoir séparé les différents isomères possibles [8] (fig 1.5).

En fait, les résultats montrèrent une stéréosélectivité de 16% - 35% , mais qui ne dépendait pas des différents isomères géométriques, représentés dans la fig. 1.5.

Lors de la condensation d'aldéhyde sur un complexe de type  $\text{M}(\text{gly})_x$ , il est possible d'augmenter la réactivité du méthylène actif par formation de base de Schiff entre la glycine et un composé carbonylé.

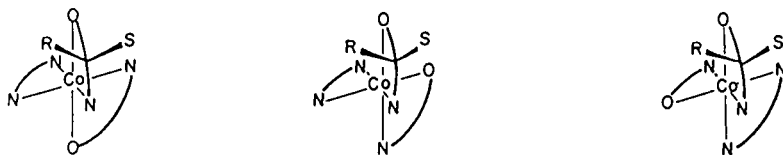


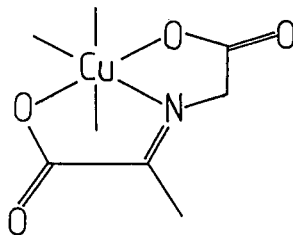
Fig. 1.5

3 isomères de  $[\text{Co}^{\text{III}}(\text{éthylènediamine})(\text{glycine})_2]$   
(R et S : hydrogènes prochiraux de la glycine).

De cette manière, il y a également suppression des hydrogènes relativement labiles de l'azote. Ce qui permet d'éviter la formation de produit secondaires. Les quelques exemples ci-dessous illustrent cette modification à la réaction d'*Akabori*.

Fig. 1.6

Base de Schiff, formée entre la glycine et l'acide pyruvique, coordonnée sur le cuivre(II).



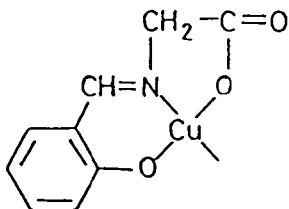
Plusieurs auteurs [9,10] ont utilisé l'acide pyruvique pour former la base de Schiff avec la glycine (fig. 1.6), coordonnée sur le cuivre(II). Les conditions de réaction sont ainsi adoucies pour la synthèse de différents  $\beta$ -hydroxy acides aminés (pH 9 et  $t = 20^\circ\text{C}$ ), qui sont obtenus avec de bons rendements (70-80%).

D'autres groupes ont travaillé avec le salicylaldéhyde [11-13] pour former la base de Schiff, toujours en prenant le cuivre comme atome central coordinateur (fig. 1.7). Les résultats furent comparables à ceux observés en présence de pyruvate.

Un autre composé carbonyle capable de former des bases de Schiff selon ces conditions, très largement utilisé, est le pyridoxal (dérivé de la vitamine  $\text{B}_6$ ).

Fig. 1.7

Base de Schiff, formée entre la glycine et le salicylaldéhyde, coordonnée sur le cuivre(II).



Néanmoins, dans ce cas [14], la réaction prédominante est la transamination (échange du groupe amine entre l'acide aminé et le pyridoxal), qui se déroule par l'intermédiaire de l'équilibre d'isomérisation représenté dans la fig. 1.8.

L'équilibre de l'isomérisation dépend largement de l'acide aminé et du métal coordinateur.

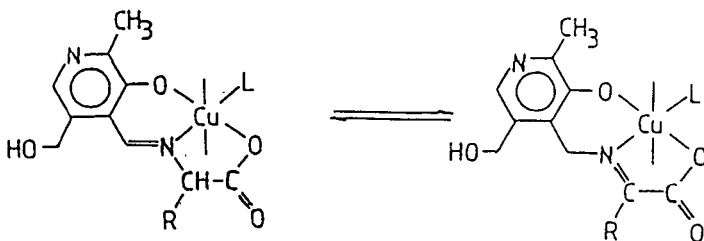


Fig. 1.8

Equilibre d'isomérisation du complexe de cuivre(II) et de la base de Schiff formée par un acide aminé et le pyridoxal.

Bien que les trois exemples cités ci-dessus sont représentatifs pour une grande partie des travaux menés dans ce domaine, plusieurs groupes de recherche ont développé des composés carbonylés particuliers, afin d'étudier des réactions spécifiques. Quelques uns seront mentionnés plus loin.

Un des intérêts dans la réaction de formation de  $\beta$ -hydroxy acides aminés, et plus spécialement de sérine ou de thréonine selon les mécanismes réactionnels discutés ci-dessus, réside dans le fait qu'il est possible, de diverses manières, d'obtenir une certaine stéréosélectivité de la réaction.

Actuellement, il existe 4 approches différentes de la question:

1. La réaction a lieu sur un centre coordinateur inerte optiquement actif. La stéréosélectivité de la réaction est influencée par la géométrie du complexe. Un exemple de ce type de réaction a déjà été cité précédemment [8].

2. La réaction a lieu entre un composé carbonylé optiquement actif et la glycine, condensée sous forme de base de Schiff, coordonnée sur le cuivre(II).

Ce système a notamment été étudié par *Ishido et coll.*, afin d'allonger de 2 unités carbonnées certains sucres [9,15]

3. La réaction a lieu entre un aldéhyde ou une cétone et une base de Schiff, formée par la glycine et un composé carbonylé optiquement actif, coordonné sur un métal

Ce système est très bien décrit par *Belokon et coll.* [16-19]. Ils ont utilisé plusieurs composés carbonylés optiquement actif, comme inducteurs chiraux; les meilleurs résultats furent obtenus avec des dérivés de la proline.

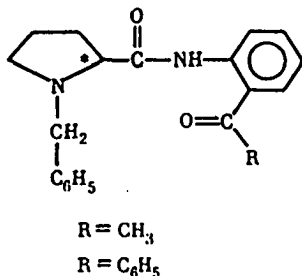


Fig. 19

[N-(benzylprolyl)amino]-2 benzophénone et  
 [N-(benzylprolyl)amino]-2 acétophénone, 2 dérivés  
 de la proline employés en tant qu'inducteurs chiraux.

Un de ces dérivés est condensé sous forme de base de Schiff avec la glycine, et coordonné sur le cuivre(II) ou le nickel(II). La réaction de ce complexe en milieu basique avec de l'acétaldéhyde ou du formaldéhyde conduit à la thréonine ou à la sérine respectivement, avec des excès

énantiomériques de l'ordre de pratiquement 100%, et un rendement chimique de 80% à 90%.

4. La réaction a lieu entre un composé carbonylé et un complexe mixte de cuivre(II) formé par la glycine et un ligand auxiliaire optiquement actif [20]. Dans l'exemple suivant, (fig. 1.10) le ligand optiquement actif est un autre acide aminé.

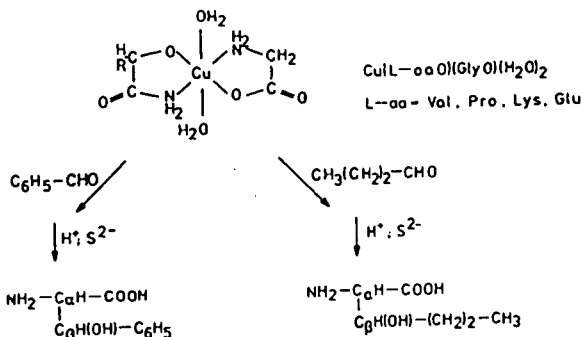


Fig. 1.10

Condensation d'un aldéhyde sur la glycine en présence d'un ligand optiquement actif.

Dans ce dernier exemple, les auteurs ne s'intéressèrent qu'aux rapports thréo/érythro, qui variait de 1,5 à 3 suivant les acides aminés auxiliaires employés.

Seul le dernier exemple représente véritablement un cas de synthèse énantiosélective. En effet, les 3 autres types de réaction présentent la glycine (unité prochirale) et le centre inducteur de chiralité sur la même molécule, et de ce fait, le produit obtenu est un diastéréoisomère, qui doit être décomposé en acide aminé par une réaction subséquente. Pour le cas (1), la chiralité du centre inducteur est alors perdue, tandis que pour le cas (2) le centre inducteur est inclus dans le produit final de réaction. Pour le cas (3), le composé carbonylé peut être récupéré par décomposition de la base de Schiff, et réutilisé par la suite, pour une nouvelle réaction. De plus, ces trois genres de réaction sont en générale stoechiométriques, et ne peuvent pas être rendus

catalytiques.

Par contre, le dernier exemple peut raisonnablement mener à une réaction catalytique, pour autant qu'il y ait échange entre l'acide aminé formé et une nouvelle molécule de glycine sur le complexe de cuivre(II).

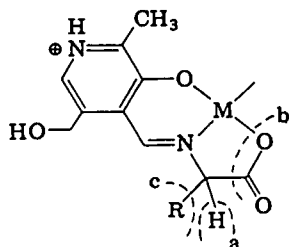
C'est d'ailleurs le genre de réaction que nous nous proposons d'étudier dans le cadre de ce travail.

La synthèse de la sérine selon ce type de réaction, présente une particularité: il a été montré que la formation d'hydroxyméthylsérine (produit disubstitué) était préférentielle à celle de la sérine lors de la condensation de formaldéhyde avec de la glycine coordonnée sur le cuivre(II) ou du cobalt(III) [21]. Des effets cinétiques et stériques sont avancés pour expliquer ce phénomène. De ce fait, l'étude de la synthèse de la sérine présente une difficulté supplémentaire, si le but recherché est l'induction asymétrique, puisque le produit disubstitué fait disparaître la chiralité de la molécule.

### 13 TRANSAMINATION PAR LA VITAMINE B<sub>6</sub>

Le terme de vitamine B<sub>6</sub> est employé pour désigner une famille de dérivés tétrasubstitués de la pyridine. Dans la nature, son rôle est des plus important en ce qui concerne les modifications d'acides aminés; en effet, elle catalyse des réactions aussi diverses que la décarboxylation, la racémisation, la transamination, et l'élimination en  $\beta$ , pour ne citer que les exemples les plus communs.

Vu le rôle important joué par cette molécule, de nombreux travaux ont été effectués afin de comprendre les mécanismes de ces divers modifications. Et bien qu'il n'existe pas de preuves formelles permettant de dire que ces transformations d'acides aminés soient toujours catalysées dans la nature par des métalloprotéines, les groupes de recherche ont axé leurs efforts principalement sur l'étude de complexes métalliques de la vitamine B<sub>6</sub> [22]. La figure ci-dessous représente de façon schématique la manière selon laquelle les acides aminés sont activés par condensation avec le pyridoxal et formation de complexe métallique, avant leur modification.

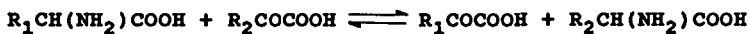
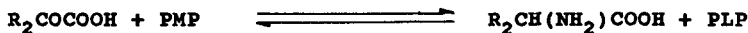
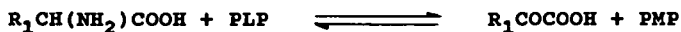


*Fig. 1.11*

Base de Schiff, formée par le pyridoxal et un acide aminé, coordonnée sur un métal (en pointillé, les liaisons labilisées par la formation d'une telle molécule).

L'activation selon le mode a) (*fig. 1.11*), qui est à la base des réactions de condensation avec des composés carbonyles, facilite aussi la transamination. Cette réaction, qui sera

également étudiée dans le présent travail, peut être décrite par les équations suivantes:



PLP : Pyridoxal-5'-phosphate

PMP : Pyridoxamine-5'-phosphate

Ainsi, un acide aminé et un céto-acide échangent leur groupe amino et carbonyle, respectivement.

Un des premiers à étudier cette réaction de manière non enzymatique, fut *Snell* [14,23,24]. Ses principaux résultats furent que la présence d'un métal augmentait considérablement la vitesse de transamination, par la formation de complexes de bases de Schiff pouvant facilement s'isomériser entre la forme cétimine et la forme aldimine.

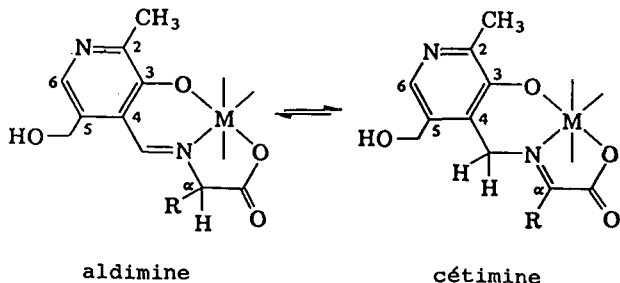


Fig. 1.12

Isomérisation entre les formes cétimine et aldimine d'une base de Schiff coordonnée sur un métal.

Par la suite, des études concernant la stéréosélectivité d'une telle réaction ont été menées. Notamment en employant

des analogues du pyridoxal optiquement actif [25], ou en effectuant la transamination par le pyridoxal en présence d'un ligand auxiliaire optiquement actif [26-29].

## 2. PRESENTATION DU TRAVAIL

Par le présent travail, nous allons étudier la condensations d'aldéhydes sur le complexe pyruvylidèneglycinatocuivre(II), ainsi que l'isomérisation du complexe phénylpyruvylidène-pyridoxaminatocuivre(II); ces 2 réactions ayant lieu en présence d'un ligand auxiliaire optiquement actif.

De telles réactions ont déjà fait l'objet de plusieurs travaux dans notre département, notamment par *R. Deschenaux* [29] et *H. Su* [30].

Le but du travail consiste en premier lieu à synthétiser un nouveau ligand optiquement actif; le choix de ce ligand dépendra des critères que nous imposerons à notre système.

Dans un deuxième temps, nous nous proposons de mettre au point une méthode d'analyse rapide et efficaces des mélanges réactionnels, afin que la détermination des excès énantiomériques soit simple et sans ambiguïtés.

Les récents progrès faits par la technique de chromatographie liquide à haute performance (HPLC), devraient permettre d'obtenir ce résultat.

Par la suite, les réactions citées ci-dessus seront étudiées en présence de nouveau ligand auxiliaire, afin d'essayer de mieux comprendre les mécanismes conduisant à une orientation préférentielle de la transformation du substrat prochiral en un produit chiral.

Finalement il s'agira d'examiner les possibilités de réaliser un système catalytique; cette éventualité étant possible car les complexes de cuivre(II) sont labiles, et que pour notre système, le ligand auxiliaire chirale ne fait pas partie du produit formé.

Les 5 critères qui ont déterminé le choix du ligand, sont les suivants:

1. Ligand tridenté avec une coordination périphérique imposée. Le ligand complète ainsi la sphère de coordination, la base de Schiff étant elle aussi tridentée et de coordination périphérique.

2. Trois atomes d'azote en tant qu'atomes coordinateurs, formant ainsi avec la base de Schiff un chromophore  $\text{Cu}(\text{N})_4(\text{O})_2$ , favorisant la formation du complexe mixte.

3. Symétrie  $\text{C}_2$  pour éliminer la possibilité de formation d'isomères géométriques avec la base de Schiff, qui elle est non-symétrique.

4. Création d'une interaction différenciée sur le carbone asymétrique qui se forme lors des réactions.

5. Formation d'un complexe avec le cuivre(II) ne permettant qu'une seule possibilité géométrique de coordination (configuration et conformation rigide).

Vu ces critères, nous avons porté notre choix sur la triamine suivante:

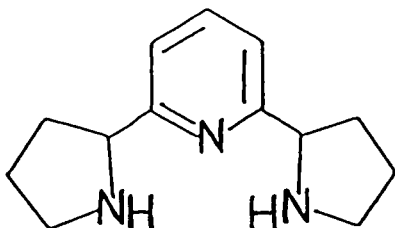


Fig. 2.1

Bis(pyrrolidinyl-2)-2,6-pyridine (bpp).

L'avantage de cette molécule par rapport aux composés analogues qui ont été utilisés précédemment [29,30], est que lors de la coordination avec le cuivre(II), les 2 amines alipha-

tiques adoptent obligatoirement la même configuration que les carbones asymétriques.

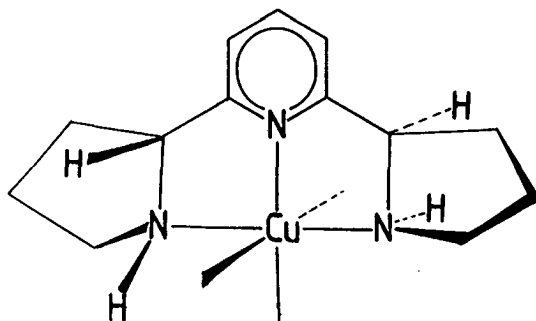


Fig. 2.2

Le complexe  $[\text{Cu}(\text{R,R})\text{bpp}]^{2+}$ .

Les 2 carbones asymétriques ainsi que les 2 azotes aliphatiques ont la configuration R.

Le complexe formé devrait ainsi se présenter, sous forme optiquement pure, avec un cycle pyrrolidine devant le plan de la pyridine, et l'autre derrière; comme enroulé autour du cuivre.

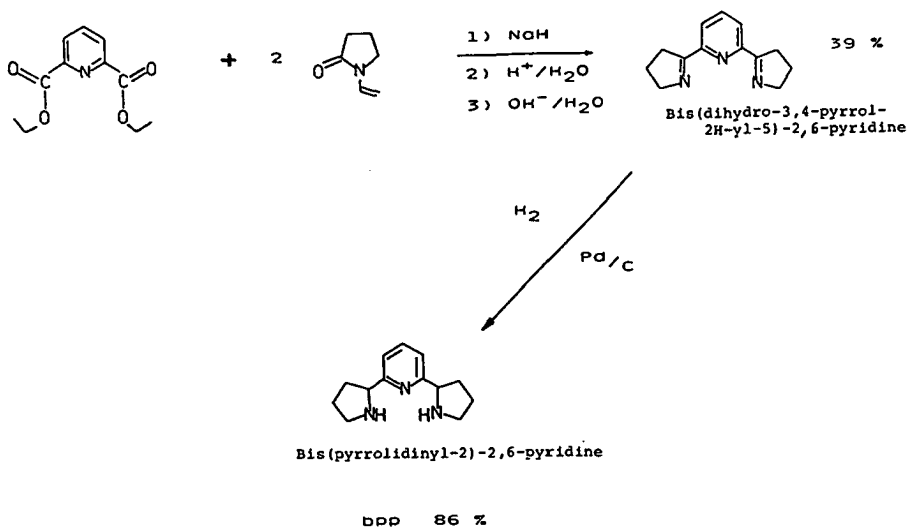
§

### 3. RESULTATS

#### 3.1 SYNTHÈSE DE BIS(PYRROLIDINYL-2)-2,6-PYRIDINE (bpp) [31]

Bis(pyrrolidinyl-2)-2,6-pyridine est obtenu par analogie à la synthèse de la myosmine et de la nor nicotine selon *Korte* [32] et *Jacob* [33].

#### SCHEMA DE SYNTHÈSE:



#### Caractérisation par spectroscopie RMN <sup>1</sup>H

Le produit intermédiaire de réaction (Bis(dihydro-3,4-pyrrol-2H-yl-5)-2,6-pyridine), montre 3 signaux différents pour les -CH<sub>2</sub>- du pyrrole en plus du doublet et du triplet caractéristiques d'une pyridine substituée en positions 2,6.

En ce qui concerne le spectre RMN  $^1\text{H}$  de bpp, il faut signaler que 2 des groupes  $-\text{CH}_2-$  sont dédoublés, et que la position des doublets et des triplets de la pyridine par rapport au spectre du produit intermédiaire de synthèse sont inversés.

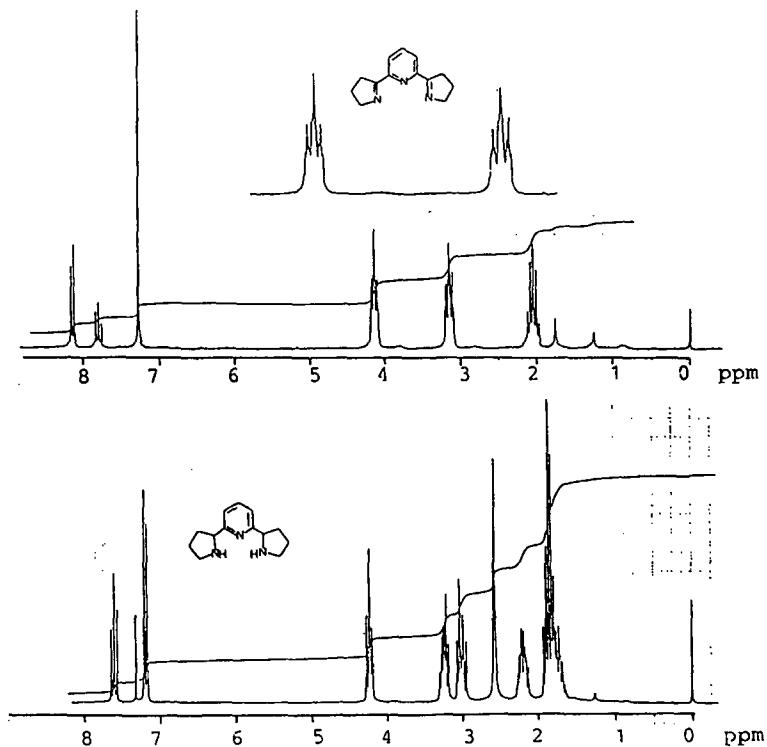


Fig. 3.1

Spectre RMN  $^1\text{H}$  du produit intermédiaire de synthèse, et de bpp.

Conditions:

Solvant:  $\text{CDCl}_3$   
Fréquence: 200 MHz  
Lock: deutérium

### 3.2 SEPARATION DE bpp-MESO ET DE DOUBLEMENT DE bpp-RAC [31]

bpp possède 2 carbones asymétriques identiques; de ce fait 3 isomères existent: le meso (RS et SR) et les 2 antipodes optiques (RR) et (SS).

Dans une première étape, une dérivation de bpp par le chlorure de p-nitrobenzoyl en bnpp (bis[N-(p-nitrobenzoyl)pyrrolidinyl-2]-2,6-pyridine), permet la séparation de bnpp-meso ( $R_F = 0,46$ ) de bnpp-rac ( $R_F = 0,30$ ), par chromatographie sur gel de silice (acétate d'éthyle / EtOH 50 : 1), comme le montre la fig. 3.2.

Après hydrolyse du dérivé bnpp-rac, les 2 antipodes optiquement purs sont obtenus par recristallisation fractionnée, des sels formés avec l'acide (-)di-O',O'-p-toluyl-L-tartrique et de son antipode optique.

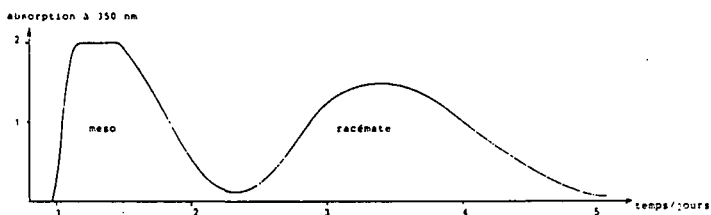


Fig. 3.2

Séparation par chromatographie sur silice  
de bnpp-meso et bnpp-rac.

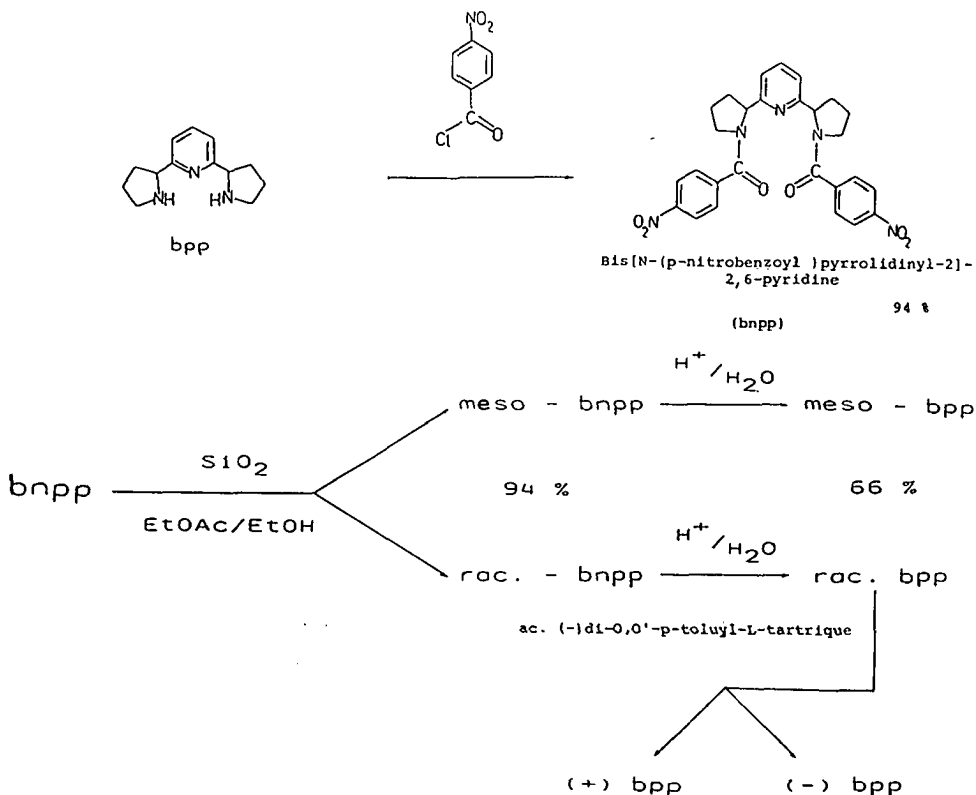
#### Caractérisation

Afin de déterminer la pureté optique, 2 dérivés de bpp sont synthétisés.

A. bpp + 2 chlorure de (-)camphanyl  $\longrightarrow$  Bis(-)camphanate de bpp

Par HPLC il est alors possible de séparer les 2 ou 3 (si le meso est présent) diastéréoisomères formés, et ainsi de déterminer la pureté optique de bpp (fig. 3.3).

SCHEMA DE SEPARATION ET DE RESOLUTION



Conditions (fig. 3.3):

Colonne: Nucleosil 120-5C<sub>18</sub> (250 x 4 mm)  
 Colonne de garde: Nucleosil 120-5C<sub>18</sub> (30 x 4 mm)  
 Solvant: MeOH/H<sub>2</sub>O (60:40)  
 Débit: 1,2 ml/min.

Temps de rétention obtenus (minutes):

(-) bnp : 19,3  
 (+) bnp : 21,5  
 bnp-meso : 22,5

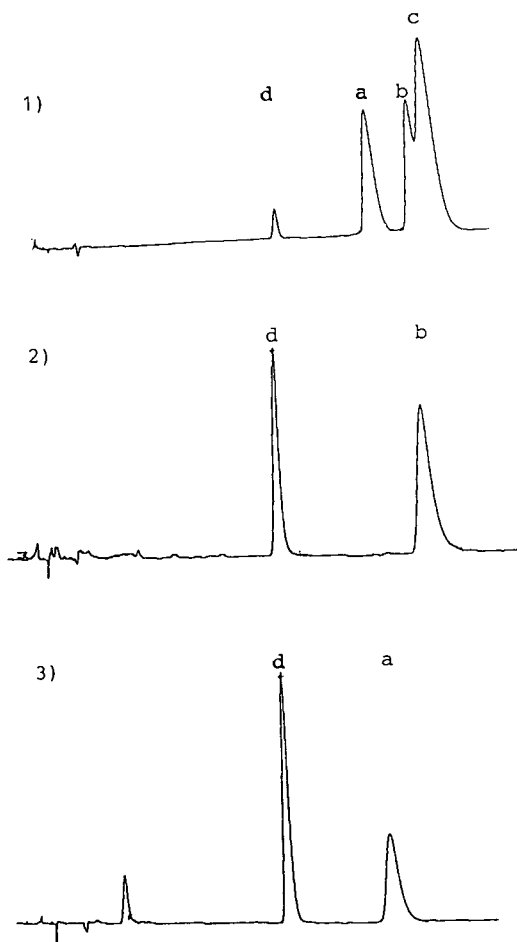


Fig. 3.3

Chromatogrammes des dérivés de bpp avec le chlorure de (-) camphanyl.

1) Mélange de synthèse: a: antipode(-) b: antipode(+)

c: meso d: acide camphanique

2) (+)bpp 3) (-)bpp

B.  $\text{bpp} + 2 \text{S}(-)\text{MTPC} \longrightarrow \text{Bis-S}(-)\text{MTPA-bpp}$  [32]

(S(-)MTPC : S(-) chlorure de  $\alpha$ -methoxy- $\alpha$ -trifluorométhyl-phenylacétyle)

Par RMN  $^{19}\text{F}$  ce dérivé (obtenu à partir de  $\text{bpp}$ -brut) montre 3 pics (fig 3.4).

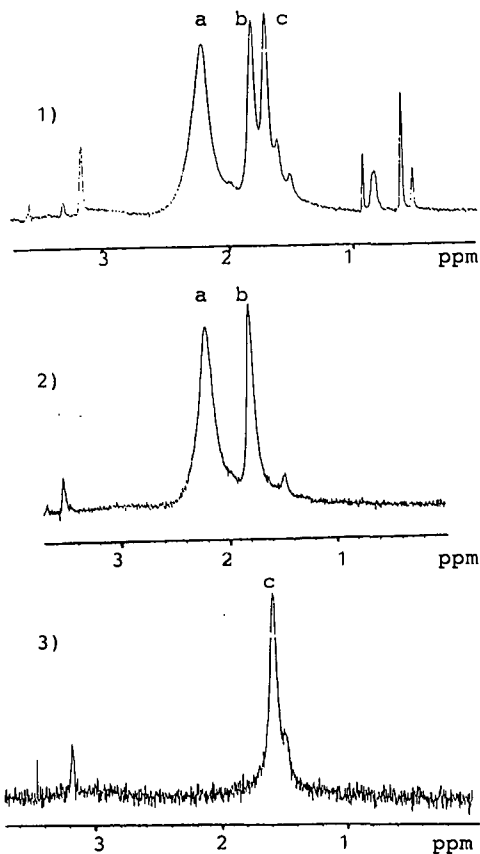


Fig. 3.4

Spectres RMN  $^{19}\text{F}$  des dérivés de  $\text{bpp}$  avec S(-)MTPC.

- 1) Mélange de synthèse: a: meso ; b et c: les 2 antipodes
- 2) Fraction II ( $R_F = 0,65$ ) de la séparation sur silice
- 3) Fraction I ( $R_F = 0,22$ )

Conditions (fig 3.4) :

Solvant:  $\text{CDCl}_3$

Fréquence: 188 MHz

Largeur du balayage : 2404 Hz

Nombre de points lors du balayage: 8192

Nombre de balayages: 50

Temps d'impulsion: 6,3  $\mu\text{s}$

Lock: deutérium

Par chromatographie sur couche mince (CCM), 2 spots (I et II) sont obtenus ( $R_F(\text{I}) = 0,22$  ;  $R_F(\text{II}) = 0,65$  ; silice ;  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  / acétate d'éthyle 7:1), que le dérivé soit obtenu à partir de bpp-rac ou de bpp-brut (meso + rac.).

Ces produits (I et II) séparés par CCM, présentent 1 pic (I) et 2 pics (II) lors de l'analyse par RMN  $^{19}\text{F}$  (fig.3.4).

Il est dès lors aisé de déduire que sur CCM, la séparation observée se fait entre un antipode d'une part, et l'autre antipode avec le meso d'autre part.

### 3.3 ETUDE DU SYSTEME $\text{Cu}^{2+}$ + bpp EN SOLUTION AQUEUSE [31]

Afin de déterminer les constantes d'équilibre du système cuivre-ligand-acide aminé, les titrations potentiométriques des solutions suivantes ont été effectuées:

a) bpp seul

b) bpp +  $\text{Cu}^{2+}$  (1:1)

c) bpp +  $\text{Cu}^{2+}$  + a.a. (1:1:1)

Les titrations sont effectuées aussi bien avec bpp-meso qu'avec bpp-rac; les acides aminés choisis sont l'alanine et la proline.

Toutes les solutions sont préparées dans de l'eau bidistillée, et les titrations sont effectuées sous azote.

La fig 3.5 montre les courbes de titrations de bpp-meso.

Pour toutes les autres titrations, les conditions sont identiques à l'exemple illustré à la page suivante, à part de légères modifications de concentrations.

A partir des courbes de titrations, les constantes d'équilibre de ces systèmes sont calculées grâce au programme "Equilibre" [35], et les valeurs obtenues sont reproduites dans le tableau 3.1.

Les résultats montrent que la constante de stabilité du complexe  $[\text{Cu}(\text{bpp})]^{2+}$  est relativement grande, par rapport à des composés analogues (cf discussion) et que d'autre part, il n'y a pas de différence significative entre les valeurs obtenues pour bpp-meso et bpp-rac.

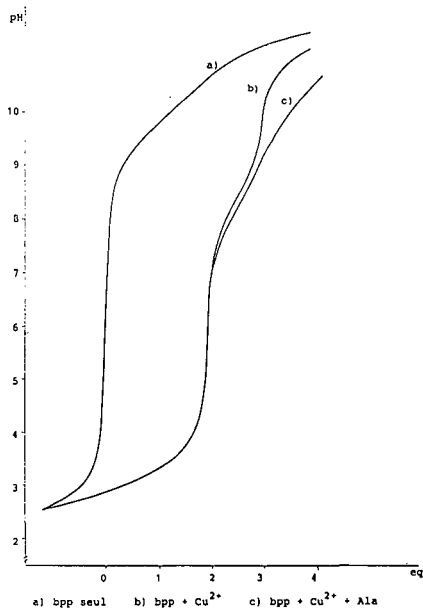


Fig. 3.5

Titration potentiométriques de bpp-meso.

$$[\text{H}^+]_{\text{tot}} = 9,13 \cdot 10^{-3} \text{ M}$$

$$[\text{bpp}]_{\text{tot}} = 2,93 \cdot 10^{-3} \text{ M}$$

$$[\text{Cu}^{2+}]_{\text{tot}} = 2,84 \cdot 10^{-3} \text{ M}$$

$$[\text{ala}]_{\text{tot}} = 2,86 \cdot 10^{-3} \text{ M}$$

La température des solutions est maintenue constante à 25°C, à l'aide d'un bain thermostaté.

La force ionique est fixée à 0,1 par adjonction de  $\text{KNO}_3$ .

**Tableau 3.1** Constantes d'équilibre du système  $\text{Cu}^{2+}$ /bpb-meso et rac./acide aminé

Ion	Equilibre	$\log K^a)$	
		meso	rac.
$\text{H}^+$	$\text{H}_2\text{L}/\text{H.HL}$	9,46	9,39
	$\text{HL}/\text{H.L}$	10,12	10,14
$\text{Cu}^{2+}$	$\text{CuHL}/\text{H.CuL}$	3,26	3,03
	$\text{CuL}/\text{Cu.L}$	16,70	16,80
	$\text{CuL}(\text{H}_2\text{O})/\text{H.CuLOH}$	8,26	8,49
	$\text{CuL}(\text{ala})/\text{CuL.ala}$	3,77	3,74
	$\text{CuL}(\text{pro})/\text{CuL.pro}$	3,79	3,92

a) valeurs moyennes de 4 titrations

### 3.4 FORMATION ET STRUCTURE DE $[\text{Cu}(\text{bpp})(\text{H}_2\text{O})](\text{ClO}_4)_2$

Le complexe  $[\text{Cu}(\text{bpp})(\text{H}_2\text{O})](\text{ClO}_4)_2$  a été synthétisé dans le but de pouvoir confirmer par analyse aux rayons-X la structure proposée au début de ce travail, à savoir la configuration bien spécifique des cycles pyrrolidines par rapport à l'axe pyridine-cuivre

Ce composé a tout d'abord été obtenu avec *bpp-rac*.

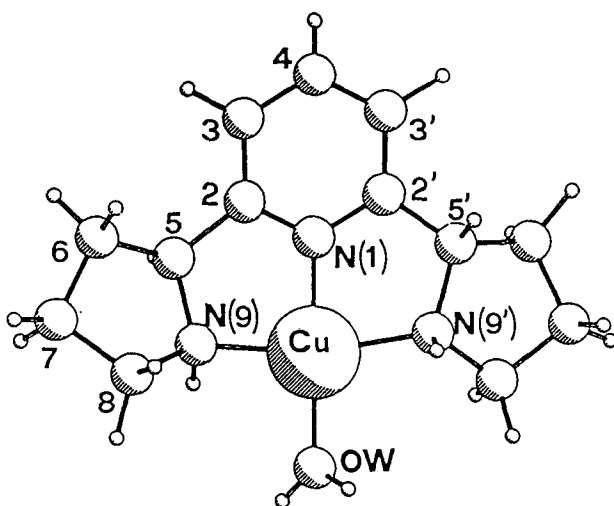


Fig. 3.6

Structure aux rayons-X du cation  $[\text{Cu}(\text{bpp-rac})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ .

La structure de ce complexe montre que l'un des cycles pyrrolidine se trouve devant le plan de la pyridine, l'autre derrière, formant en quelque sorte un "S" couché.

Il y a 2 molécules d'eau de cristallisation par molécule de  $[\text{Cu}(\text{bpp-rac})(\text{H}_2\text{O})](\text{ClO}_4)_2$ .

**Tableau 3.2** Distances de liaison dans le composé  
[Cu(bpp-rac)(H<sub>2</sub>O)](ClO<sub>4</sub>).

atomes	distance/Å	atomes	distance/Å
Cu-N(1)	1,911(3)	C(3)-C(4)	1,380(4)
Cu-N(9)	2,021(2)	C(5)-C(6)	1,538(3)
Cu-O(W)	1,919(3)	C(5)-N(9)	1,499(3)
N(1)-C(2)	1,345(3)	C(6)-C(7)	1,516(5)
C(2)-C(3)	1,377(4)	C(7)-C(8)	1,515(4)
C(2)-C(5)	1,507(3)	C(8)-C(9)	1,500(3)
O(W)-H(OW)	0,70(3)	O(W)...O(W2)	2,64(2)
H(OW)...O(W2)	1,95(3)		

**Tableau 3.3** Angles de liaison dans le composé  
[Cu(bpp-rac)(H<sub>2</sub>O)](ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>.

atomes	angles/°	atomes	angles/°
N(1)-Cu-N(9)	83,5(1)	C(3)-C(4)-C(3')	120,1(4)
N(1)-Cu-O(W)	180,0	C(2)-C(5)-C(6)	114,2(2)
N(9)-Cu-O(W)	96,5(1)	C(2)-C(5)-N(9)	111,1(2)
N(9)-Cu-N(9')	167,0(1)	C(6)-C(5)-N(9)	105,8(2)
Cu-N(1)-C(2)	119,1(1)	C(5)-C(6)-C(7)	102,8(2)
C(2)-N(1)-C(2')	121,9(3)	C(6)-C(7)-C(8)	102,3(2)
N(1)-C(2)-C(3)	119,9(2)	C(7)-C(8)-N(9)	104,5(2)
N(1)-C(2)-C(5)	114,9(2)	Cu-N(9)-C(5)	111,5(1)
C(3)-C(2)-C(5)	125,2(2)	Cu-N(9)-C(8)	117,0(2)
C(2)-C(3)-C(4)	119,1(3)	C(5)-N(9)-C(8)	107,1(2)
O(W)-H(OW)...O(W2)	171(1)		

Opération de symétrie: (') -x, y,  $\frac{1}{2}$ -z

Les cristaux de [Cu(bpp-rac)(H<sub>2</sub>O)](ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> sont monoclini-

ques, et appartiennent au groupe spatial C2/c.

a = 12,484(3); b = 10,788(2); c = 16,668(3) Å; B = 109,31(1)°  
V = 2118,5 Å<sup>3</sup>; Z = 4; D<sub>calc</sub> = 1,622 g/cm<sup>3</sup>.

R<sub>final</sub> = 0,030 et R<sub>w</sub> = 0,038 sur 1695 réflexions indépendantes [F<sub>0</sub> > 4σ(F<sub>0</sub>)].

Un composé analogue a ensuite été synthétisé avec (+)bpp, de manière à obtenir la configuration absolue du ligand. Dans ce cas, la cristallisation est effectuée en présence du ion sulfate, et de l'acide (-)di-O,O'-p-toluyl-L-tartrique, de manière à connaître la configuration absolue d'une molécule, ce qui permet par la suite de déduire celle des autres.

La structure obtenue cette fois-ci se distingue nettement de celle obtenue avec le ligand racémique, comme le montre la fig. 3.7. En effet, un polymère de coordination ayant comme unité de base les complexes [Cu(+)(bpp)]<sub>3</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>(acide(-)di-O,O'-p-toluyl-L-tartrique) est obtenu. Cette structure de base comprend 3 complexes, qui bien que très ressemblant, ne sont pas tout à fait identiques en ce qui concerne les angles (tableau 3.5) ainsi que les longueurs (tableau 3.4) de liaison. De ce fait, dans ces tableaux, les indices (1), (2) et (3) se rapportent aux différents complexes de l'unité de base du polymère; de même que les indices [S(i)] se rapportent aux trois ions sulfates de cette unité de base.

La résolution de cette structure, en tenant compte de la configuration absolue de l'acide (-)di-O,O'-p-toluyl-L-tartrique, dont une molécule cristallise avec trois molécules du complexe [Cu(+)(bpp)](SO<sub>4</sub>) dans le cas présent, permet d'attribuer la configuration (R,R) au ligand (+)bpp.

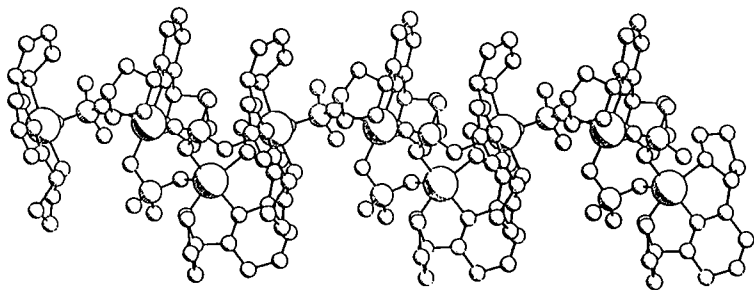
Les cristaux de ([Cu(+)(bpp)]<sub>3</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>(acide (-)di-O,O'-p-toluyl-L-tartrique))<sub>n</sub> sont orthorhombiques, et appartiennent au groupe spatial P2<sub>1</sub><sup>2</sup><sub>1</sub><sup>2</sup><sub>1</sub>.

a = 11,754(2); b = 19,794(2); c = 29,926(4) Å.

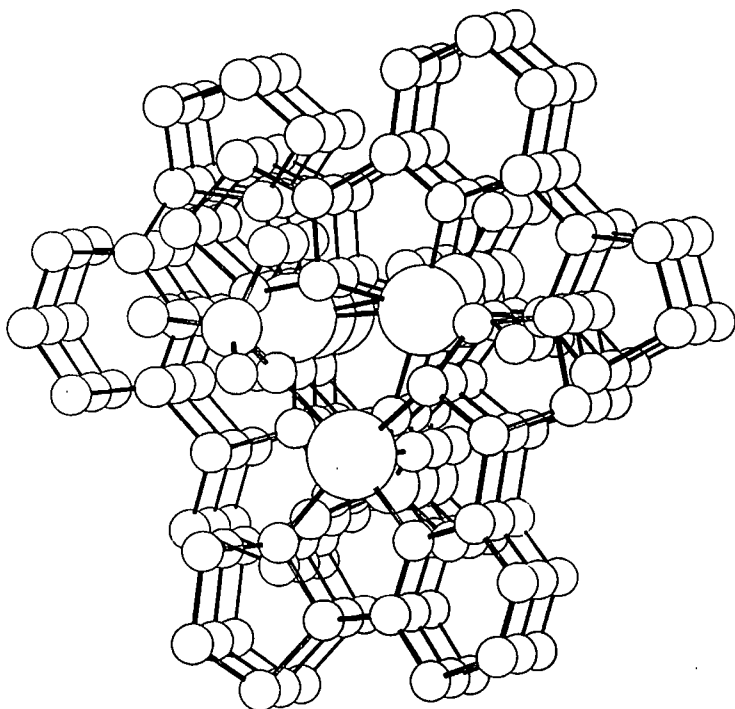
V = 6962,5 Å<sup>3</sup>, Z = 4, D<sub>calc</sub> = 1,79 g/cm<sup>3</sup>.

R<sub>final</sub> = 0,085 et R<sub>w</sub> = 0,076 sur 2474 réflexions indépendantes [F<sub>0</sub> > 3σ(F<sub>0</sub>)].

a)



b)



*Fig. 3.7*

Structures au rayon-X de  
 $[(\text{Cu}(+)\text{bpp})_3(\text{SO}_4)_3(\text{acide } (-)\text{di-}0,0'\text{-p-toluy-l-tartrique})]_n$ .

a) Vue de profil du polymère

b) Vue de face du polymère

**Tableau 3.4** Distances de liaison dans le composé  
 ([Cu(+)*bpp*]<sub>3</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>(acide (-)di-O,O'-*p*-toluyl-*L*-tartrique))<sub>n</sub>

atomes	distances/Å (1)	distances/Å (2)	distances/Å (3)
Cu-N(1)	1,942	1,909	1,938
Cu-N(2)	2,031	2,000	2,061
Cu-N(3)	2,000	2,081	2,043
Cu-O(1)	1,947 [S(3)]	1,952 [S(1)]	1,900 [S(2)]
Cu-O(3)	2,310 [S(1)]	2,319 [S(2)]	2,394 [S(3)]

**Tableau 3.5** Angles de liaison dans le composé  
 ([Cu(+)*bpp*]<sub>3</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>(acide (-)di-O,O'-*p*-toluyl-*L*-tartrique))<sub>n</sub>

atomes	angles/° (1)	angles/° (2)	angles/° (3)
N(1)-Cu-N(2)	81,9	80,8	83,8
N(1)-Cu-N(3)	84,9	83,8	81,4
N(1)-Cu-O(1)	168,0	175,5	175,9
N(1)-Cu-O(3)	98,0	90,5	92,6
N(2)-Cu-N(3)	163,1	161,8	162,7
N(2)-Cu-O(1)	97,8	97,2	96,8
N(2)-Cu-O(3)	100,0	101,3	95,3
N(3)-Cu-O(1)	93,1	98,9	97,4
N(3)-Cu-O(3)	92,2	88,3	94,3
O(1)-Cu-O(3)	93,0	86,0	91,4

Une vue détaillée d'une partie du polymère (fig. 3.8) permet de mieux visualiser les différents atomes se trouvant dans les 2 tableaux ci-dessus.

Les calculs permettant de résoudre les structures ont été effectués avec les programmes SHELX-86 [36] et SHELX-76 [37], et complétés par des informations provenant des tables

de cristallographie [38]; les dessins ont été élaboré avec le programme PLUTO [39].

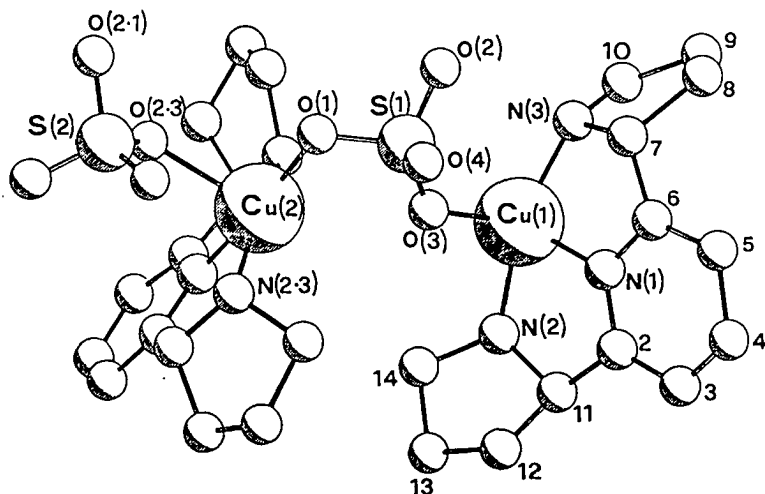


Fig. 3.8

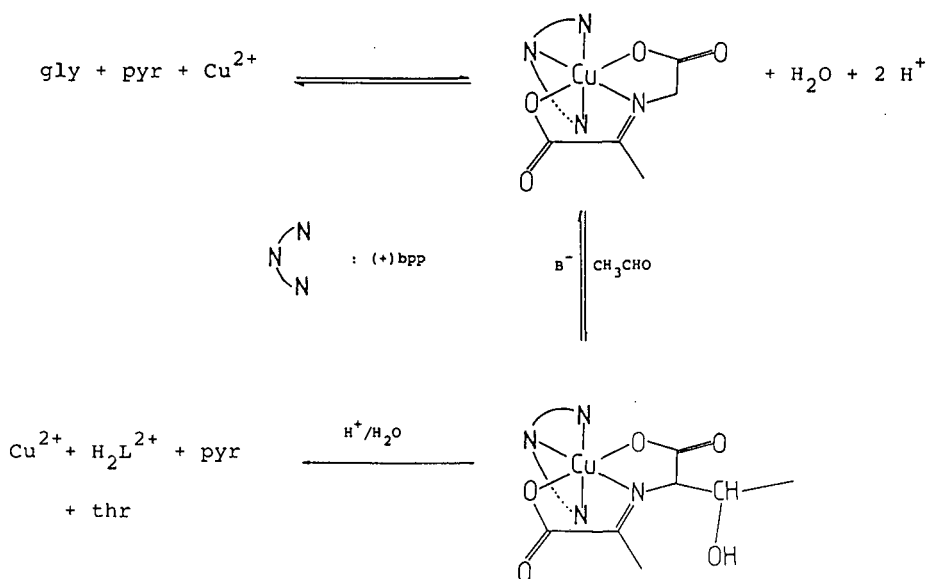
Vue détaillée de la structure de  $([\text{Cu}(\text{+})\text{bpp}]_3(\text{SO}_4)_3(\text{acide } (-)\text{di-}o,o'\text{-p-toluy1-L-tartrique}))_n$ .

### 3.5 SYNTHÈSE DE LA THREONINE [ 40 ]

La synthèse de la thréonine s'effectue par une réaction de *Knoevenagel* (condensation d'un aldéhyde ou d'une cétone avec un groupe méthylène actif): la glycine activée par formation d'une base de Schiff avec l'acide pyruvique et par coordination sur le cuivre, réagit en présence d'une base avec un aldéhyde.

Dans le cadre de ce travail cette réaction a lieu en présence du complexe optiquement actif  $[Cu(+)\text{bpp}]^{2+}$ , ce qui devrait provoquer une induction asymétrique dans les produits de synthèse.

#### SCHEMA DE REACTION



La thréonine possède 2 carbones asymétriques, de ce fait il existe 4 isomères; la configuration de l'isomère est donnée par celle du carbone  $\alpha$ .

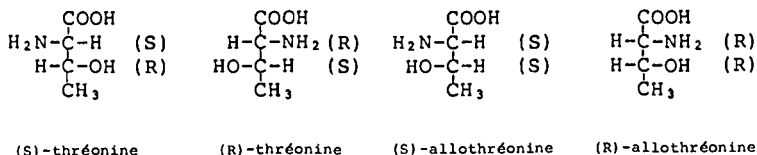


Fig. 3.9

Les 4 isomères de la thréonine en projection de Fisher.

La synthèse de la thréonine a tout d'abord été étudiée en fonction du pH (tableau 3.6).

La réaction se déroule dans l'eau, et le pH est fixé par un tampon 0,2 M borate (9,5 - 10,5) ou phosphate (11,0 - 12,0).

La température de réaction est de 20°C

Les différents pourcentages des isomères de la thréonine obtenus par HPLC (cf 3.8 Méthode d'analyse), sont calculés par rapport à la somme de glycine et de thréonine dans le mélange réactionnel.

Le tableau 3.6, permet les considérations suivantes:

- La réaction est légèrement accélérée par une augmentation du pH.
- L'excès énantiomérique autant pour la thréonine que pour l'allothréonine ne varie pratiquement pas en fonction du pH.
- Le rapport thréonine/allothréonine également reste pratiquement constant et se situe près de 3.

**Tableau 3.6 Synthèse de la thréonine en fonction du pH.**

$$[\text{Cu}(+)\text{bpp}^{2+}] = [\text{glycine}] = [\text{pyruvate}] = C_0 = 10^{-2} \text{ M}$$

$$[\text{CH}_3\text{CHO}] = 20 C_0 \quad t = 20^\circ\text{C}$$

No	pH	temps de réaction/h	% R-thr	% S-thr	% R-allothr	% S-allothr	% ee (thr)	% ee (allothr)
1	9,5	1,2	9	7	5	<1	13	82
		2,7	14	10	8	2	17	60
		19,4	32	23	15	4	16	58
2	10,0	1,1	10	7	5	<1	18	82
		2,5	18	13	9	1	16	80
		19,2	33	25	15	2	14	76
3	10,5	1,0	10	7	6	<1	18	81
		2,4	18	13	10	1	16	82
		19,0	37	27	17	2	16	79
4	11,0	0,9	18	13	10	1	16	82
		2,3	28	21	15	2	17	80
		18,9	40	31	21	2	13	83
5	11,5*	0,8	19	14	10	1	15	82
		2,2	29	22	16	2	14	78
		18,7	40	30	22	3	14	76
6	12,5*	0,6	13	9	8	1	18	78
		2,1	24	18	14	2	14	75
		18,6	38	29	21	3	13	75

\* Lors des synthèses à pH élevé, et lors de temps de réaction prolongés, la décomposition des acides aminés devient un facteur important. A la fin de la réaction, à pH 11,5 la somme des acides aminés ne correspond plus qu'à 50% de la glycine engagée, à pH 12,0 il n'en reste que 35%.

Un problème important est la décomposition des acides aminés; vu la lenteur des condensations (équilibre atteint après plus d'un jour), des conditions de réactions drastiques (pH haut) font apparaître une disparition importante de la concentration totale en acide aminé. Ainsi, pour la suite, les essais ne se feront pas à un pH plus élevé que 10,5.

En fait, le domaine pH est assez limité, puisqu'à pH 9 ou en dessous, la concentration en base n'est plus assez importante pour permettre à la réaction de se dérouler.

La synthèse de la thréonine est ensuite étudiée en fonction des équivalents de pyruvate (tableau 3.7).

Les conditions générales sont les mêmes que celles indiquées précédemment, mais le pH est fixé cette fois-ci à 10,5 par un tampon borate 0,2 M.

Le tableau 3.7, permet les observations suivantes:

- La réaction est accélérée par une augmentation de la concentration en pyruvate (mais pas d'une manière linéaire); et cela jusqu'à un excès d'environ 6, par rapport au complexe  $[\text{Cu}(\text{bpp})]^{2+}$ ; puis, il y a stabilisation de la vitesse de réaction malgré un plus grand excès de pyruvate.

- En présence d'un excès de pyruvate, les excès énantiomériques ne sont que très légèrement supérieurs à ceux obtenus lors de la synthèse avec un seul équivalent de pyruvate.

Il en découle que la formation de complexe mixte cuivre-bpp-base de Schiff est favorisé par un excès de pyruvate; néanmoins, ce déplacement de l'équilibre en faveur du complexe mixte n'est pas d'une très grande amplitude, car les résultats obtenus avec un excès de pyruvate ne sont pas très différents de ceux obtenus avec un seul équivalent de pyruvate. Autrement dit, la formation du complexe mixte est déjà très importante dans un système  $\text{Cu}^{2+}/\text{bpp}/\text{pyr}/\text{gly}$  (1:1:1:1).

**Tableau 3.7 Synthèse de la thréonine en fonction des équivalents de pyruvate.**

$$[\text{Cu}(+)\text{bpp}^{2+}] = [\text{glycine}] = C_0 = 10^{-2} \text{ M}$$

$$[\text{CH}_3\text{CHO}] = 20 C_0 \quad \text{pH} = 10,5 \quad t = 20^\circ\text{C}$$

No eq <sub>pyr</sub>	temps de réact./h	% R-thr	% S-thr	% R-allothr	% S-allothr	% ee (thr)	% ee (allothr)	
1	2,3	3,2	27	19	14	1	17	87
		4,7	32	23	17	1	16	89
		21,3	41	29	20	2	17	82
2	4,4	3,1	29	20	17	1	18	89
		4,8	37	26	17	1	17	89
		20,9	43	31	18	2	16	80
3	6,7	3,0	33	23	18	1	18	89
		4,9	39	29	22	1	15	91
		20,7	42	30	21	2	17	83
4	8,8	2,7	33	23	17	1	18	89
		5,0	37	27	19	1	16	90
		20,6	41	30	20	1	15	90
5	10,9	2,6	32	23	16	1	16	88
		5,1	37	27	19	1	16	90
		20,5	40	30	22	2	14	83

Les équivalents de pyruvates sont indiqués en unité de  $C_0$

Suite à ces résultats, la formation des thréonines par condensation d'acétaldéhyde sur le complexe mixte de cuivre-pyruvylidenglycine a été étudié en fonction de la température, en conservant les autres conditions réactionnelles (tableau 3.8).

**Tableau 3.8 Synthèse de la thréonine en fonction de la température.**

$$[\text{Cu}(+)\text{bpp}^{2+}] = [\text{glycine}] = C_0 = 10^{-2} \text{ M} \quad [\text{pyruvate}] = 2 C_0$$

$$[\text{CH}_3\text{CHO}] = 20 C_0 \quad \text{pH} = 10,5$$

No	t °C	temps de réaction/h	% R-thr	% S-thr	% R-allothr	% S-allothr	% ee (thr)	% ee (allothr)
1	0	2,0	8	5	4	<1	23	>90
		4,0	10	7	4	<1	18	>90
2	50	2,0	35	25	20	3	17	73
		4,0	40	31	19	3	13	73

Le tableau 3.8, permet les considérations suivantes:

- La réaction se déroule beaucoup plus rapidement à 50°C (elle est pratiquement terminée après 4 h), mais la sélectivité est plus faible à cette température.

- La sélectivité semble être fonction de la température, puisqu'à 0°C, elle est meilleur qu'à 20°C (20% contre 17% pour les thréonines, et >90% contre 85% pour les allothréonines).

Afin de compléter l'étude de la synthèse de la thréonine, cette dernière est mesurée dans un milieu contenant des proportions variables d'éthanol.

Les conditions générales sont les mêmes que précédemment, seul la concentration du tampon est changée: tampon borate 0,1 M (tableau 3.9).

**Tableau 3.9 Synthèse de la thréonine en fonction du % EtOH.**

$$[\text{Cu}(+)\text{bpp}^{2+}] = [\text{glycine}] = C_0 = 10^{-2} \text{ M} \quad [\text{pyruvate}] = 2,2 C_0$$

$$[\text{CH}_3\text{CHO}] = 20 C_0 \quad \text{pH} = 10,5 \quad t = 20^\circ \text{ C}$$

No	% EtOH	temps de réac./h	% R-thr	% S-thr	% R-allothr	% S-allothr	% ee (thr)	% ee (allothr)
1	20	2,6	24	18	15	1	14	88
		4,9	29	22	16	1	14	88
		20,6	39	30	23	2	13	84
2	40	2,5	11	9	9	2	10	83
		4,8	20	15	19	2	14	81
		20,5	33	26	29	3	12	81
3	60	2,4	7	6	7	<1	8	89
		4,7	13	10	12	1	13	85
		20,4	24	20	22	2	9	83
4	80	2,3	4	4	5	<1	-	>90
		4,6	10	8	10	<1	11	>90
		20,3	22	18	18	<1	10	>90

Le tableau 3.9 permet les observations suivantes:

- La réaction est ralentie par adjonction d'éthanol, surtout pour les pourcentages élevés de ce dernier (ralentissement au début de la réaction de 4 à 5 fois pour un milieu contenant 80% d'éthanol, par rapport au milieu aqueux).

- La sélectivité diminue pour la thréonine, mais se maintient pratiquement pour l'allothréonine.

- Le rapport thréonine/allothréonine diminue, et passe de 3 (moyenne pour les autres synthèses) à environ 2.

Pour terminer l'étude de la synthèse de la thréonine, quelques essais ont été effectués avec une quantité catalytique du complexe  $[\text{Cu}(+)\text{bpp}]^{2+}$ , selon les conditions opératoires suivantes:  $[\text{Cu}(+)\text{bpp}^{2+}] = 5.10^{-4}$  M;  $[\text{glycine}] = 5.10^{-2}$  M;  $[\text{pyruvate}] = 10^{-2}$  M; pH 10,5;  $t = 0^{\circ}\text{-}20^{\circ}\text{C}$ ; eau comme solvant.

Tous ces essais ont conduit au même résultat, à savoir que la thréonine ne se forme pratiquement pas (elle est détectable, par HPLC, seulement à l'état de trace), et que seule la glycine est bien visible tout au long de la réaction.

En résumé, on constate que la réaction de condensation de l'acétaldéhyde sur la base de Schiff formée par la glycine et le pyruvate, en présence du complexe  $[\text{Cu}(+)\text{bpp}]^{2+}$ , conduit à la formation des quatres diastéréoisomères de la thréonine, dont les proportions varient relativement peu en fonction des conditions réactionnelles.

Pour les réactions mesurées jusqu'à terme, le rendement global, calculé relativement à la quantité de glycine engagée, se situe entre 75% et 94%, avec les proportions suivantes pour les quatres diastéréoisomères et en fonction des conditions réactionnelles (pourcentages relatifs):

**R-thr: 43 - 47%**

**R-allothr: 19 - 23%**

**S-thr: 31 - 33%**

**S-allothr: 1 - 5%**

(En ne tenant compte que des résultats obtenus en milieu aqueux).

La stéréosélectivité observée varie ainsi entre 13% et 17% pour la thréonine, et entre 73% et 90% pour l'allothréonine.

Il est aussi possible de déterminer la sélectivité moyenne sur le carbone  $\alpha$  et  $\beta$  de la thréonine:

Sélectivité ( $C_{\alpha}$ ) = (R-thr + R-allothr) - (S-thr + S-allothr)

Sélectivité ( $C_{\beta}$ ) = (S-thr + R-allothr) - (R-thr + S-allothr)

On obtient ainsi:

Sélectivité moyenne sur le carbone  $\alpha$  : 31% (R)

Sélectivité moyenne sur le carbone  $\beta$  : 5%

### 3.6 SYNTHÈSE DE LA SÉRINE [40]

Le schéma de réaction est identique à celui de la thréonine (cf 3.5 Synthèse de la thréonine), simplement, l'acétaldéhyde est remplacé par le formaldéhyde.

Dans le cas de la sérine, le problème est un peu plus simple, car cet acide aminé ne possède qu'un centre asymétrique; il n'y aura donc que 2 énantiomères qui se forment lors de la réaction.

La synthèse de la sérine a tout d'abord été étudiée en fonction du pH (tableau 3.10).

La réaction se déroule dans l'eau, et le pH est fixé par un tampon 0,2 M borate (pH 10) ou phosphate (pH 11-12).

Le rendement chimique est calculé par rapport à la quantité de glycine engagée au début de la réaction.

Le tableau 3.10, permet les considérations suivantes:

- La sélectivité observée correspond pratiquement à celle observée pour le carbone  $\alpha$  lors de la synthèse de la thréonine.
- La vitesse de réaction augmente légèrement avec l'accroissement du pH.
- La dégradation des acides aminés devient importante au dessus de pH 11 et lors de temps de réaction prolongés.
- Un peu de racémisation apparaît, dès pH 11 et lors de temps de réaction prolongés.
- Il n'y a pas de formation d'hydroxyméthylsérine (produit disubstitué), alors que ce dernier est souvent observé comme produit secondaire de réaction [21].

**Tableau 3.10 Synthèse de la sérine en fonction du pH.**

$$[\text{Cu}(+)\text{bpp}^{2+}] = [\text{glycine}] = [\text{pyruvate}] = C_0 = 5.10^{-3} \text{ M}$$
$$[\text{CH}_2\text{O}] = 10 C_0 \quad t = 20^\circ \text{ C}$$

No	pH	temps de réaction/h	rdt. %	ee %
1*)	10	1	10	10 (R)
		2	12	12 (R)
		5	22	28 (R)
		23	61	28 (R)
		47	73	28 (R)
2	11	1	10	8 (R)
		2	14	28 (R)
		5	28	26 (R)
		23	70	24 (R)
		47	58	20 (R)
3	12	1	12	14 (R)
		2	18	22 (R)
		5	32	20 (R)
		23	26	14 (R)
		47	19	12 (R)

\*) La réaction est illustrée graphiquement par la *fig 3.10*.

En fait, ces résultats sont tout à fait en corrélation avec ceux observés lors de la synthèse de la thréonine.

La réaction de condensation est ensuite étudiée dans du méthanol comme solvant, et en présence de méthanolate de sodium 0,1 M en tant que base (tableau 3.11).

Les conditions générales restent identiques aux précédentes.

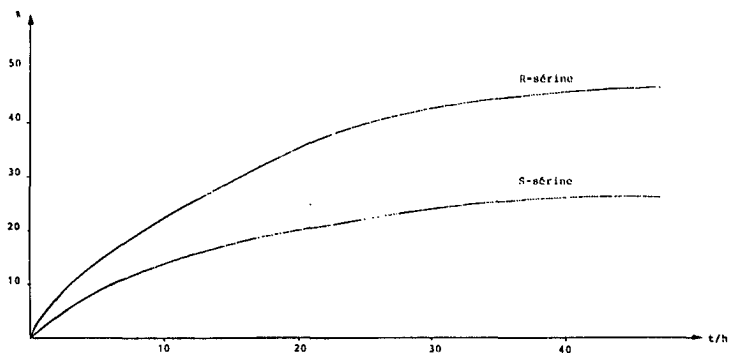


fig 3.10

Variation de la concentration des énantiomères de la sérine en fonction du temps, pour l'essai No 1 du tableau 3.10.

**Tableau 3.11** Synthèse de la sérine dans MeOH en présence de MeONa 0,1 M

$$[\text{Cu}(+)\text{bpp}^{2+}] = [\text{glycine}] = [\text{pyruvate}] = C_0 = 5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$$

$$[\text{CH}_2\text{O}] = 10 C_0 \quad t = 20^\circ \text{ C}$$

temps de réaction/min	rdt. %	ee %
6	30	52 (R)
12	52	56 (R)
18	51	58 (R)
26	46	54 (R)
61	44	46 (R)

Cette fois-ci, les résultats diffèrent manifestement des précédents:

- La réaction est beaucoup plus rapide (terminée après environ 15 min.), et la sélectivité nettement plus grande (pratiquement le double) dans le méthanol que dans l'eau.

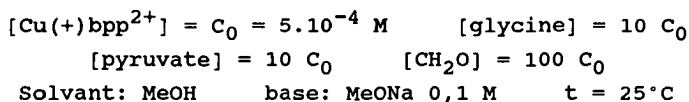
- Le taux de conversion est néanmoins plus faible et la racémisation a aussi lieu.

- L'hydroxyméthylsérine n'est toujours pas observée.

Donc, contrairement à la synthèse de la thréonine, l'apport d'alcool semble être un paramètre tout à fait bénéfique pour la synthèse de la sérine.

Pour terminer l'étude de la formation de la sérine, des essais ont été effectués avec une quantité catalytique du complexe  $[Cu(+)\text{bpp}]^{2+}$  (tableau 3.12).

**Tableau 3.12 Synthèse catalytique de la sérine.**



temps de réaction/min	rdt. %	ee %
14	31	10 (R)
29	50	10 (R)
50	62	10 (R)
120	66	4 (R)
315	61	2 (R)

Le rendement chimique est calculé sur la base de la quantité totale de glycine engagée.

Cette fois-ci, la réaction est catalytique, et ne semble pas bloquée; par contre, l'excès énantiomérique n'est pas très grand, et disparaît pratiquement complètement après quelques heures.

Il semblerait que lors de l'échange entre la sérine et la glycine, ou entre le pyruvylidènesérinate et le pyruvilydèneglycinate, il y ait en même temps une racémisation partielle.

En conclusion, la synthèse de la sérine est tout à fait comparable à celle de la thréonine, pour autant que la réaction de condensation ait lieu dans l'eau.

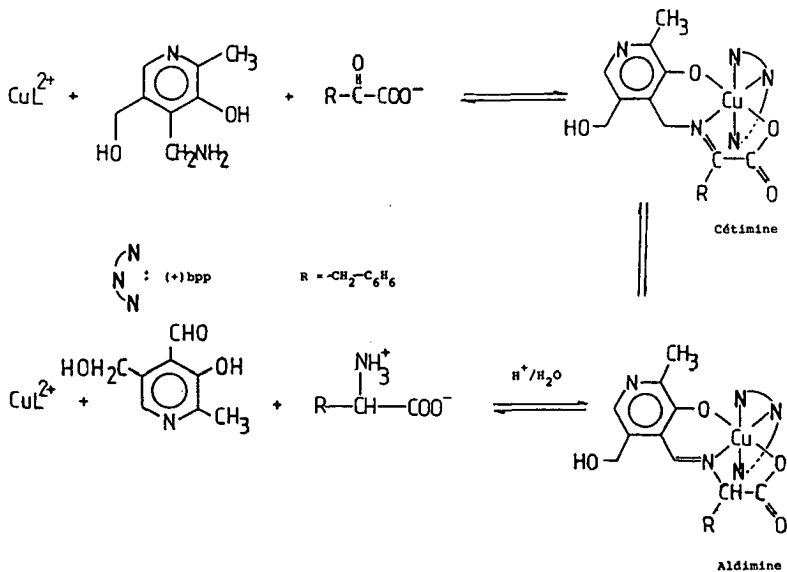
En effet, la sélectivité sur le carbone  $\alpha$  est à nouveau de l'ordre de 30% (R).

Par contre, lorsque la synthèse a lieu dans MeOH en présence de MeONa, les résultats diffèrent considérablement autant par la vitesse de réaction que par sa sélectivité, qui atteint alors pratiquement 60% (R), c'est à dire le double.

### 3.7 TRANSAMINATION DU PHENYLPYRUVATE EN PHENYLALANINE

La transamination étudiée ici, s'opère par une isomérisation de la base de Schiff formée entre un céto acide et la pyridoxamine; cette réaction se déroule dans le cadre de ce travail en présence du complexe optiquement actif  $[\text{Cu}(+)\text{bpp}]^{2+}$ .

#### SCHEMA DE REACTION:



Cette réaction est divisée en 2 étapes:

1. Formation de la cétimine (formation d'une base de Schiff) entre la pyridoxamine et l'acide phénylpyruvique.
2. Isomérisation de la cétimine en aldimine; il y a alors création d'un centre chiral sur le carbone adjacent de l'azote coordinateur de la base de Schiff (carbone  $\alpha$  du futur acide aminé).

L'hydrolyse de l'aldimine conduit ensuite au pyridoxal et à la phénylalanine: le groupe amine a été transféré d'une molécule à l'autre.

Dans un premier temps, il semblait utile de faire une étude qualitative du système. En effet, des études antérieures [26-29] concernant la stéréosélectivité de la transamination en présence d'un ligand optiquement actif, ont montré que le pH entre autre avait une grande influence sur une telle réaction.

Ces mêmes études ont montré que l'isomérisation de la cétimine en aldimine se manifestait par l'apparition d'une forte bande d'absorption entre 350 et 400 nm, due à la formation d'une double liaison conjuguée avec le cycle aromatique du pyridoxal.

De ce fait, la réaction a été étudiée qualitativement par HPLC et par spectrophotométrie UV en fonction du pH (tableau 3.13).

La synthèse se déroule dans l'eau, et le pH est fixé par des tampons 0,1 M (pH 4-6: citrate; pH 7, 11 et 12: phosphate; pH 8-10: borate).

Les concentrations de phénylalanine ainsi que la sélectivité sont estimées sur la base des chromatogrammes d'HPLC. (cf. 3.8 Méthode d'analyse).

En complément au tableau 3.13, le comportement de l'absorption au cours du temps aux environs de 380 nm est illustré par 2 spectres (fig. 3.11).

Les enseignements suivants peuvent être tirés de cette étude préliminaire:

- L'apparition d'une bande d'absorption aux environs de 380 nm n'est pas en corrélation directe avec la formation de la phénylalanine pour notre système.

- En milieu acide, la réaction est lente, non quantitative, ni stéréosélective.

- En milieu neutre ou légèrement basique, la réaction semble être quantitative et est stéréosélective.

- En milieu basique, la réaction est à nouveau freinée, mais est stéréosélective bien qu'un peu de racémisation apparaisse lors de temps de réaction prolongés.

**Tableau 3.13 Synthèse de la phénylalanine (phe) en fonction du pH.**

$$[\text{Cu}(+)\text{bpp}^{2+}] = C_0 = 2.10^{-3} \text{ M} \quad [\text{pyridoxamine}] = C_0$$

$$[\text{phénylpyruvate}] = 15 C_0 \quad t = 20^\circ\text{C}$$

No	pH	bande à 380 nm	2 h. de réaction		16 h. de réaction	
			[phe]	sélectivité	[phe]	sélectivité
1	4	oui	très faible	nulle	moyenne	très faible(R)
2	5	oui	très faible	nulle	faible	très faible(R)
3	6	non	très faible	nulle	moyenne	faible(R)
4	7	non	moyenne	grande(R)	grande	grande(R)
5	8	non	moyenne	grande(R)	grande	grande(R)
6	9	non	moyenne	grande(R)	grande	grande(R)
7	10	non	moyenne	grande(R)	moyenne	grande(R)
8	11	non	faible	grande(R)	moyenne	grande(R)
9	12	non	très faible	grande(R)	moyenne	faible(R)

Dès lors, on peut formuler l'hypothèse suivante: lors de la transamination en milieu acide, le ligand (+)bpp ne doit pas être coordonné sur le cuivre en présence de la base de Schiff (pas de complexe mixte); ou du moins, si le complexe mixte existe avec la forme cétimine de la base de Schiff, (+)bpp est expulsé lors de la transamination.

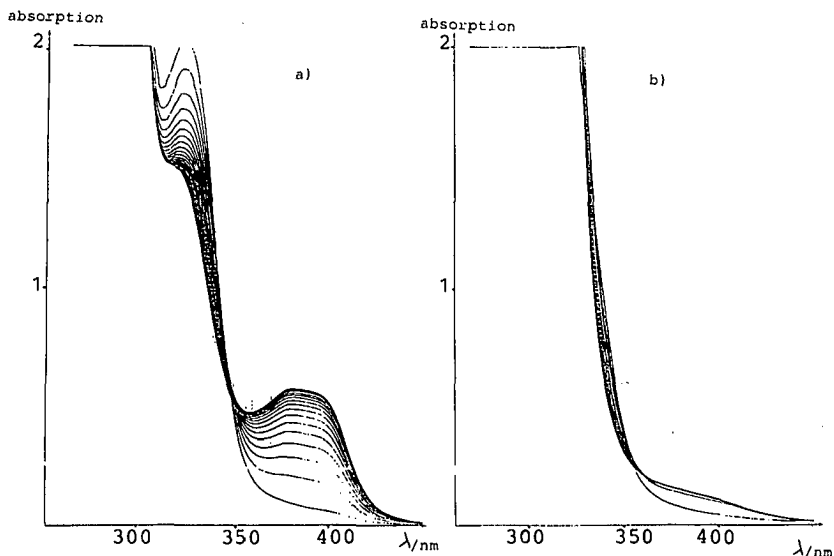


Fig. 3.11

Spectres d'absorption lors de la réaction de transamination

a) pH = 5  $\Delta t$  = 10 minutes

b) pH = 7  $\Delta t$  = 20 minutes

Conditions de réaction: cf tableau 3.13

Par contre, en milieu neutre ou basique, la formation énantiosélective de phénylalanine prouve l'existence du complexe mixte lors de la transamination; cette existence doit être toutefois très faible, car comme le montre la fig. 3.11, dans un tel milieu la bande à 380 nm n'a que très peu d'intensité.

En conclusion, les conditions de réactions optimum se trouvent dans un domaine pH compris entre 7 et 9.

D'autres essais préliminaires qualitatifs ont été effectués:

Etant donné que le but final est une transamination catalytique complète, c'est à dire non seulement le passage du groupe amine de la pyridoxamine au phénylpyruvate, mais en plus, le transfert subséquent d'un nouveau groupe amine sur

le pyridoxal formé (retour à la pyridoxamine), il a semblé utile d'effectuer la même réaction que précédemment, mais en présence de glycine en tant que donneur potentiel de groupe amine (tableau 3.14).

**Tableau 3.14 Synthèse de la phénylalanine en présence de glycine.**

$$\begin{aligned}
 [\text{Cu}(+)\text{bpp}^{2+}] &= C_0 = 2.10^{-3} \text{ M} & [\text{pyridoxamine}] &= C_0 \\
 [\text{glycine}] &= 3 C_0 & [\text{phénylpyruvate}] &= 15 C_0 & t &= 20^\circ\text{C}
 \end{aligned}$$

No	pH	2 h. de réaction		16 h. de réaction	
		% phe	% ee	% phe	% ee
1	5	< 5	-	< 10	-
2	7	< 5	~ 20 (R)	< 10	~ 30 (R)
3	8	< 5	~ 20 (R)	< 10	~ 30 (R)

De toute évidence, la présence de glycine gêne la réaction de transamination. L'explication la plus plausible, est qu'il y a compétition entre la glycine et la base de Schiff ou le ligand auxiliaire (+)bpp.

Etant donné que les mêmes problèmes empêchèrent de mener à bien une étude similaire [29], les essais catalytiques ne seront effectués dorénavant que pour une transamination simple, c'est à dire sans la présence d'un donneur auxiliaire de groupe amine permettant un retour du pyridoxal en pyridoxamine.

De plus, vu la difficulté à former le complexe mixte de l'aldimine lors de cette réaction, des essais effectués avec un excès de ligand (+)bpp devraient fournir des précisions utiles (tableau 3.15).

Au vu du tableau 3.15, un excès de (+)bpp ralentit quelque peu la réaction, mais n'a pas d'effet sensible à la fin de

celle-ci.

**Tableau 3.15** Synthèse de la phénylalanine en présence d'un excès de (+)bpp.

$$\begin{aligned} [\text{Cu}^{2+}] &= C_0 = 2 \cdot 10^{-3} \text{ M} & [\text{pyridoxamine}] &= C_0 \\ [\text{phénylpyruvate}] &= 15 C_0 & t &= 20^\circ\text{C} & \text{pH} &= 7 \end{aligned}$$

No	[(+)bpp]	2 h. de réaction		16 h. de réaction	
		% phe*)	% ee	% phe*)	% ee
1	$C_0$	~ 50	~ 30 (R)	~ 80	~ 30 (R)
2	$2C_0$	~ 40	~ 30 (R)	~ 80	~ 30 (R)
3	$3C_0$	~ 30	~ 30 (R)	~ 80	~ 30 (R)

\*) Relatif à la quantité de pyridoxamine.

Cela montre qu'il n'est pas nécessaire de travailler en présence d'un excès du ligand (+)bpp, mais qu'un équivalent de ce dernier suffit.

La réaction de transamination du phénylpyruvate en phénylalanine est alors étudiée à pH 7 et 8, en fonction des équivalents de pyridoxamine, d'une manière quantitative (tableau 3.16).

Les conditions générales de synthèse sont identiques à celles employées lors de l'étude qualitative.

Lors de ces essais, une solution concentrée de  $[\text{Cu}(+)\text{bpp}]^{2+}$  récupérée (cf. 3.8 Méthode d'analyse) a été employée.

Le tableau 3.16 permet les considérations suivantes:

- La réaction semble être légèrement plus sélective à pH 8 qu'à pH 7, mais sa vitesse semble être indépendante du pH.

- Par rapport à la quantité de complexe  $[\text{Cu}(+)\text{bpp}]^{2+}$ , la ré-

action peut être considérée comme catalytique, puisque la quantité de phénylalanine formée est supérieure au catalyseur.

- La réaction avec 1 ou 2 équivalents de pyridoxamine (relatif à la quantité de  $[\text{Cu}(+)\text{bpp}]^{2+}$ ) est pratiquement quantitative, mais semble aboutir à une situation d'équilibre lorsque la concentration en pyridoxamine est plus élevée.

**Tableau 3.16 Synthèse de la phénylalanine à pH 7 et 8 en fonction des équivalents de pyridoxamine (PM).**

$$[\text{Cu}(+)\text{bpp}^{2+}] = C_0 = 2.10^{-3} \text{ M} \quad [\text{phénylpyruvate}] = 15 C_0$$

$$t = 20^\circ\text{C}$$

No	[PM]	pH	5 h. de réaction		16 h. de réaction	
			% rdt.	% ee	% rdt.	% ee
1	$C_0$	7	55	20 (R)	90	24 (R)
2	2 $C_0$		53	20 (R)	95	22 (R)
3	3 $C_0$		38	20 (R)	72	22 (R)
4	5 $C_0$		44	16 (R)	70	18 (R)
5	10 $C_0$		38	12 (R)	60	16 (R)
6	$C_0$	8	40	24 (R)	90	22 (R)
7	2 $C_0$		63	28 (R)	85	20 (R)
8	3 $C_0$		58	36 (R)	72	20 (R)
9	5 $C_0$		48	30 (R)	50	20 (R)
10	10 $C_0$		32	26 (R)	49	20 (R)

Les rendements chimiques ainsi que les excès énantiomériques sont déterminés par HPLC, en prenant la S-alanine comme étalon interne.

Les rendements chimiques sont calculés par rapport à la quantité de pyridoxamine engagée.

Afin de compléter ce tableau, les spectres UV des solutions finales (après 16 h. de réaction) sont établis entre 450 et 300 nm (fig. 3.12). Il est ainsi visible qu'une bande aux environs de 380 nm apparaît avec l'augmentation de la concentration en pyridoxamine. Cela est certainement dû à une augmentation de la concentration de la base de Schiff (forme aldimine), libre en solution [41].

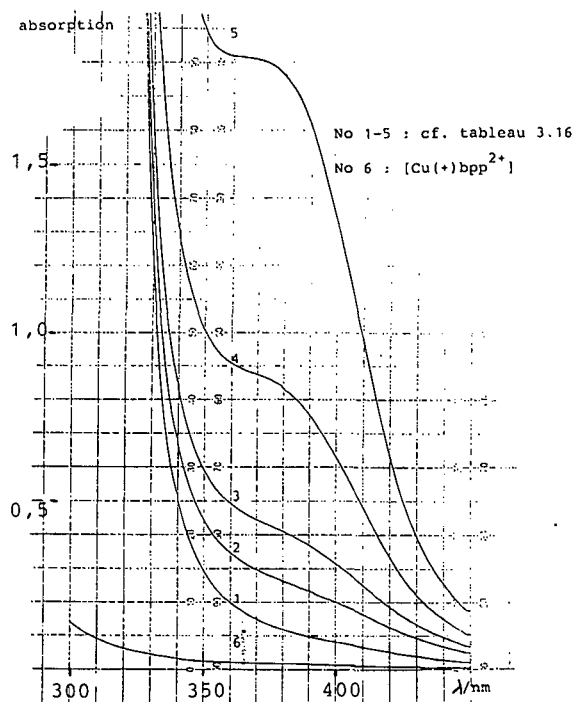


Fig. 3.12

Spectres de 300 à 450 nm des différentes solutions après 16 heures de réaction.

La réaction de transamination est ensuite suivie au cours du temps avec un excès de pyridoxamine, à pH 8.

Différents paramètres sont variés, afin de mettre en évidence certains points (tableau 3.17).

Les conditions générales de synthèse restent identiques.

**Tableau 3.17 Synthèse de la phénylalanine avec un excès de pyridoxamine (PM) et de phénylpyruvate (PPA).**

$$[\text{Cu}(+)\text{bpp}^{2+}] = 2.10^{-3} \text{ M} \quad t = 20^{\circ}\text{C} \quad \text{pH} = 8$$

No	[PM]	[PPA]	temps de réaction/h	rdt. %	ee %
1 <sup>a)</sup>	5 C <sub>0</sub>	5 C <sub>0</sub>	1	22	20 (R)
			2	31	24 (R)
			6	46	26 (R)
			24	73	20 (R)
2 <sup>b)</sup>	5 C <sub>0</sub>	5 C <sub>0</sub>	1	18	22 (R)
			2	27	24 (R)
			6	37	32 (R)
			24	61	30 (R)
3 <sup>c)</sup>	10 C <sub>0</sub>	15 C <sub>0</sub>	2	12	22 (R)
			3	17	28 (R)
			5	34	28 (R)

Les rendements chimiques sont toujours calculés par rapport à la quantité de pyridoxamine engagée.

a) Le complexe  $[\text{Cu}(+)\text{bpp}]^{2+}$  provient de la récupération de ce dernier, lors d'expériences antérieures, sous forme de solution concentrée; la base de Schiff "est formée" 24 h. à l'avance.

b) Le complexe  $[\text{Cu}(+)\text{bpp}]^{2+}$  provient de la récupération de ce dernier, lors d'expériences antérieures, sous forme de perchlorate cristallin; la base de Schiff "est formée" 24 h. à l'avance.

c) Le complexe  $[\text{Cu}(+)\text{bpp}]^{2+}$  employé a la même provenance que

sous b), la base de Schiff n'est pas formée au préalable.

En complément au tableau 3.17, la réaction décrite par le No 1 est suivie par spectroscopie UV entre 300 et 450 nm (fig. 3.13).

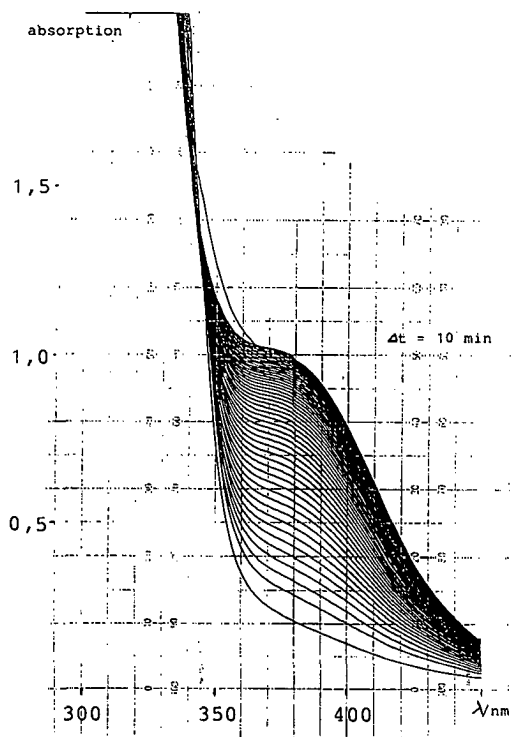


Fig. 3.13

Cinétique de la transamination lors de l'essai No 1 (tableau 3.17).

Ces résultats permettent les considérations suivantes:

- La sélectivité est plus élevée, et atteint 30% lorsque le complexe  $[\text{Cu}(+)\text{bpp}]^{2+}$  employé provient d'un échantillon solide (sel de perchlorate). Ceci s'explique par le fait que lorsque le complexe est récupéré sous forme de solution, un tout petit peu de cuivre existe à l'état libre, provenant

certainement d'une légère décomposition du ligand (+)bpp lors de réactions antérieures. Cela ne peut être le cas avec le complexe obtenu sous forme de perchlorate: lors de la récupération, le complexe cristallise alors que l'éventuel excès de  $\text{Cu}^{2+}$  est éliminé dans les eaux-mères.

D'ailleurs la transamination en présence du complexe récupéré sous forme de perchlorate est légèrement plus lente, ce qui indique que le ligand (+)bpp désactive quelque peu le système, tout en induisant une asymétrie dans la synthèse; ces effets sont dus sans doute à la gêne stérique induite par (+)bpp.

- La préparation préalable de la base de Schiff (24 h. à l'avance) n'accélère pas la réaction. Ce qui indique que l'étape déterminante de vitesse est l'isomérisation entre la forme cétimine et aldimine de la base de Schiff.

- L'excès de pyridoxamine provoque l'apparition d'une bande aux environs de 380 nm; mais la variation en fonction du temps de cette bande ne correspond pas à celle observée pour la transamination en milieu acide (cf fig. 3.11 et 3.13).

En conclusion, la transamination du phénylpyruvate en phénylalanine par isomérisation de la base de Schiff formée avec la pyridoxamine en présence du complexe  $[\text{Cu}(+)\text{bpp}]^{2+}$  a les caractéristiques suivantes:

La réaction se déroule de manière optimum dans le domaine pH de 7 à 9, la sélectivité sur le carbone  $\alpha$  de l'acide aminé formé atteint 30% (R), (c'est le même résultat que pour la synthèse de la thréonine et de la sérine).

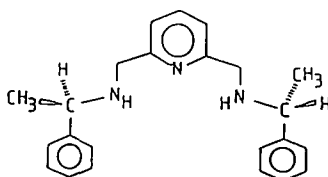
Le complexe  $[\text{Cu}(+)\text{bpp}]^{2+}$  peut jouer le rôle de catalyseur et dans ce cas, la sélectivité se maintient à la même valeur que lors d'une réaction stoechiométrique; mais d'autre part, lorsqu'il y a un excès de pyridoxamine, la réaction n'est plus quantitative: un équilibre est observé.

Pour terminer l'étude de la transamination du phénylpyruvate en phénylalanine, quelques essais ont été effectués avec un

autre ligand auxiliaire, afin de comparer les résultats obtenus avec (+)bpp.

Cet autre ligand auxiliaire est le bis[aza-2-phényl-3(R)-butyl]-2,6-pyridine (bapbp; fig. 3.14), et a déjà été utilisé en tant que ligand auxiliaire pour le même système étudié dans le cadre de ce travail, mais seulement lors de réaction en milieu acide [29].

Fig. 3.14



Le ligand (R,R)bapbp.

La transamination a tout d'abord été étudiée au cours du temps, avec une quantité stoechiométrique de pyridoxamine. La réaction a lieu dans un mélange H<sub>2</sub>O/EtOH (70:30), afin de solubiliser le complexe formé par bapbp, et le pH est fixé à 8 par un tampon borate 0,1 M (tableau 3.18).

**Tableau 3.18 Synthèse de la phénylalanine en présence de (R,R)bapbp.**

$$[\text{Cu(R,R)bapbp}^{2+}] = C_0 = 2.10^{-3} \text{ M} \quad [\text{pyridoxamine}] = C_0$$

$$[\text{phénylpyruvate}] = 15 C_0 \quad t = 20^\circ\text{C} \quad \text{pH} = 8$$

No	temps de réaction/h	rdt. %	ee %
1	0,3	82	22 (S)
2	0,7	100	22 (S)
3	4,0	100	12 (S)
4	24	100	12 (S)

Les rendements chimiques sont calculés par rapport à la quantité de pyridoxamine engagée.

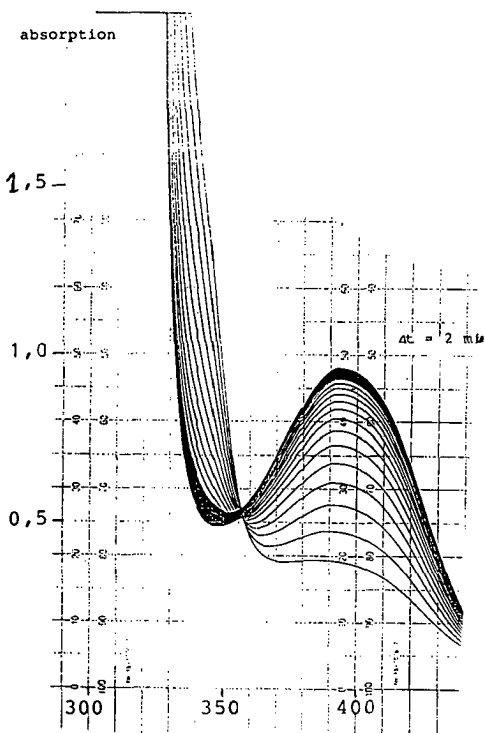
Par rapport à la transamination en présence de (+)bpp, 2 effets sont caractéristiques de la présence de (R,R)bapbp:

- La vitesse de réaction est beaucoup plus grande.
- La sélectivité diminue au cours du temps.

Cette réaction a été suivie par spectrophotométrie entre 300 et 450 nm (fig. 3.15).

Fig. 3.15

Cinétique de la transamination en présence de bapbp.



Cette fois-ci, la bande d'absorption à 380 nm apparaît aussi lorsque la pyridoxamine est en quantité stoechiométrique. Cela peut indiquer un comportement contraire à celui observé avec (+)bpp à un tel pH: l'isomérisation en aldimine de la base de Schiff expulse le ligand (R,R)bapbp, ce qui a pour effet d'entraîner la racémisation subséquente de l'aldimine, ainsi que l'augmentation de la concentration du complexe

[Cu-aldimine], responsable de l'absorption à 380 nm. C'est d'ailleurs le mécanisme proposé pour cette réaction en milieu acide [29].

La transamination du phénylpyruvate en phénylalanine en présence du ligand auxiliaire optiquement actif bapbp, est ensuite étudiée avec un excès de pyridoxamine au cours du temps.

Les conditions générales de la transamination sont les mêmes que précédemment (tableau 3.19).

**Tableau 3.19** Synthèse de la phénylalanine en présence de bapbp avec un excès de pyridoxamine.

$$[\text{Cu(R,R)bapbp}^{2+}] = C_0 = 2.10^{-3} \text{ M} \quad [\text{pyridoxamine}] = 10 C_0$$

$$[\text{phénylpyruvate}] = 15 C_0 \quad t = 20^\circ\text{C} \quad \text{pH} = 8$$

No	temps de réaction/h	rdt. %	ee %
1	0,1	21	44 (S)
2	0,5	29	48 (S)
3	1,0	37	42 (S)
4	6,5	68	26 (S)
5	24	72	6 (S)

Les rendements sont calculés par rapport à la quantité totale de pyridoxamine engagée.

Le tableau 3.19 permet les considérations suivantes:

- La réaction est catalytique en complexe  $[\text{Cu(R,R)bapbp}]^{2+}$ .
- La réaction n'est plus quantitative lorsqu'il y a un excès de pyridoxamine, alors que c'était le cas en présence d'une

quantité stoechiométrique de cette dernière.

- L'excès énantiomérique est grand, et atteint pratiquement 50% au début de la réaction.

- Les remarques concernant la vitesse de réaction et la racémisation sont identiques à celles observées pour la transamination avec un équivalent de pyridoxamine.

En conclusion, la transamination du phénylpyruvate en phénylalanine par isomérisation de la base de Schiff formée avec la pyridoxamine en présence du complexe  $[\text{Cu}(\text{R,R})\text{bapbp}]^{2+}$  présente les caractéristiques suivantes en comparaison de celles observées avec le complexe  $[\text{Cu}(+)\text{bpp}]^{2+}$ :

La vitesse d'isomérisation est nettement plus grande. Il en est de même en ce qui concerne l'excès énantiomérique au début de la réaction; pourtant, celui-ci finit par devenir presque insignifiant lorsque l'équilibre est atteint.

L'apparition d'une importante bande d'absorption à 380 nm même lorsque la réaction a lieu en présence d'un seul équivalent de pyridoxamine, et la racémisation subséquente, montrent que la quantité du complexe  $[\text{Cu}\text{-aldimine}]$  devient importante, par expulsion de  $(\text{R,R})\text{bapbp}$ , contrairement à ce qui a été observé avec le ligand  $(+)\text{bpp}$ .

### 3.8 METHODE D'ANALYSE [40]

Dans un premier temps, il faut séparer les acides aminés du cuivre, de manière à pouvoir les doser par la suite. En effet, les acides aminés en présence de cuivre peuvent exister sous différentes formes (libres ou complexés), ce qui empêche un dosage correct.

De bons résultats ont été obtenus avec une résine chélatante: acryl-IDA; il s'agit en fait de l'acide iminodiacétique greffé sur du polyacrylamide.

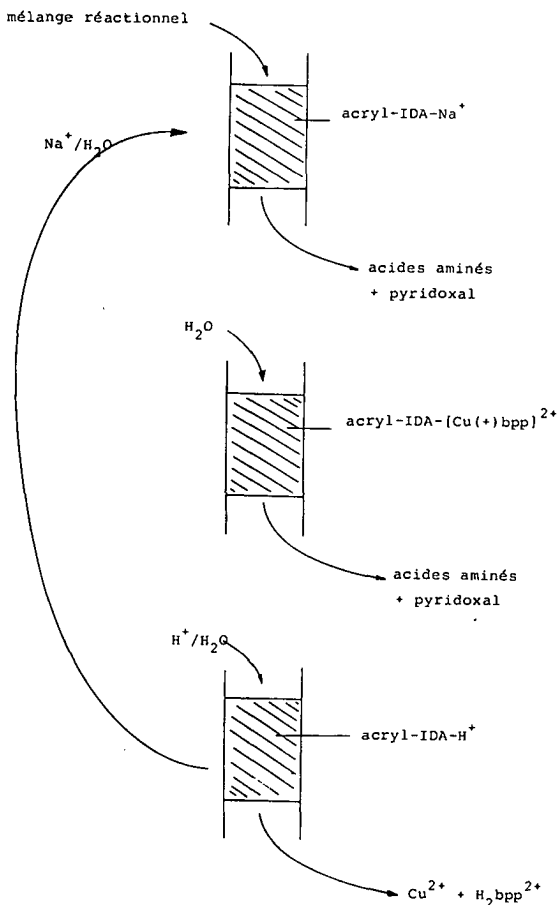
De cette manière, un échantillon préalablement neutralisé du mélange réactionnel contenant le cuivre, les acides aminés et d'autres substances, est passé à travers une petite colonne contenant la phase acryl-IDA (sous forme  $\text{Na}^+$ ) et simplement élué avec de l'eau: le complexe  $[\text{Cu}(\text{bpp})]^{2+}$  reste fixé sur le polymère tandis que les acides aminés se retrouvent dans l'éluat (fig. 3.16).

En fait, l'acide iminodiacétique déplace la base de Schiff, et forme un nouveau complexe mixte ayant toujours le même chromophore  $\text{CuN}_4\text{O}_2$ .

Ainsi il est possible de récupérer le complexe  $[\text{Cu}(+)\text{bpp}]^{2+}$  utilisé lors d'une réaction et de le réemployer pour une réaction ultérieure. Pour ce faire, il suffit de neutraliser la solution contenant le cuivre et  $(+)\text{bpp}$  avec  $\text{NaOH}$ . Si l'acide chlorhydrique 2 N a été employé au préalable afin d'éluier le cuivre et  $(+)\text{bpp}$ , une solution concentrée du complexe est obtenue par concentration et filtrations successives des précipités de  $\text{NaCl}$ . Cette solution concentrée peut être utilisée lors des réactions ultérieures, néanmoins, dans ce cas, les excès énantiomériques des synthèses asymétriques sont un peu moins bons (cf. 3.7 Transamination). Cela est dû au fait que lors de toutes ces étapes (synthèse asymétrique; fixation sur acryl-IDA; élution des acides aminés; élution par  $\text{HCl}$  2 N; concentrations; filtrations du  $\text{NaCl}$ ) une petite partie de  $(+)\text{bpp}$  est perdue, ce qui provoque évidemment un excès de  $\text{Cu}^{2+}$  en solution.

Fig. 3.16

Séparation du cuivre des acides aminés.



Le meilleur moyen de récupérer le complexe [Cu(+))bpp]<sup>2+</sup> pur, est d'éluer ce complexe de la phase acryl-IDA par HClO<sub>4</sub> 2 N: ainsi, la neutralisation et la concentration de l'éluat permettent d'obtenir ce complexe sous forme de cristaux; par filtration et lavage du sel, le Cu<sup>2+</sup> éventuellement en excès est éliminé dans les eaux-mères.

Grâce à cette méthode, jusqu'à 70% du complexe peut être récupéré, et l'analyse par polarimétrie montre qu'il n'y a aucune racémisation, donc qu'il est possible de réutiliser ce complexe pour une autre réaction de synthèse asymétrique.

Pour un résultat optimal, les mélanges réactionnels lors des synthèses de la thréonine, de la sérine ou de la phénylalanine sont neutralisés avant d'être passés sur la phase acryl-IDA.

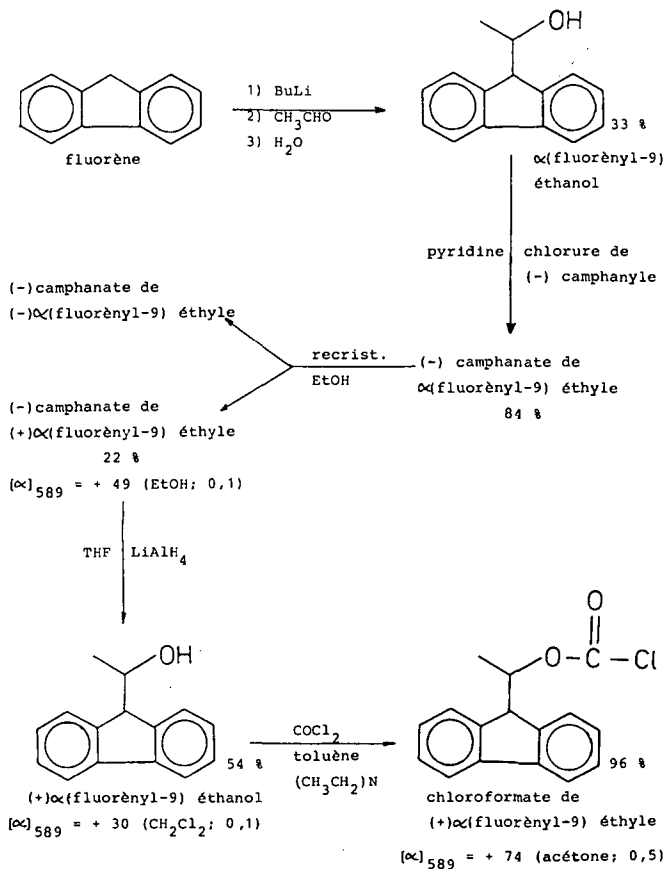
La deuxième partie de la méthode d'analyse consiste à séparer les différents acides aminés entre eux, ainsi que leurs isomères. Ce problème a été résolu par la dérivation des acides aminés avec le produit optiquement pur (+)FLEC (chloroformate de (+)- $\alpha$ -(fluorényl-9)éthyle) et séparation de ces dérivés par HPLC.

La synthèse et le dédoublement de FLEC sont décrits ici, car des modifications aux travaux déjà publiés [42] ont été nécessaires afin d'obtenir ce produit optiquement pur (schéma de synthèse et de dédoublement de FLEC).

Le dédoublement du  $\alpha$ -fluorényl-9 éthanol a été grandement facilité par l'analyse du dérivé recristallisé (camphanate de  $\alpha$ -(fluorényl-9)éthyle), par HPLC sur une phase de type Pirkle ((R)-dinitro-3,5-benzoylphénylglycine greffée sur du propylamine de gel de silice) [43-47]. En effet, en employant une phase optiquement active de ce type, il est possible de visualiser la progression du dédoublement (fig. 3.17).

Lors de la recristallisation du dérivé, camphanate de  $\alpha$ -(fluorényl-9) éthyle, les cristaux se trouvent soit sous la forme d'aiguilles, soit sous la forme de prismes; grâce à l'analyse par HPLC sur phase de type Pirkle, il a été mis en évidence que les cristaux de type prismatique étaient nettement enrichis en isomère dextrogyre, tandis que ceux sous forme d'aiguilles contenaient un excès de l'isomère lévogyre (fig. 3.17).

SCHEMA DE SYNTHESE ET DE DEDOUBLEMENT DE FLEC



Les conditions pour l'obtention des chromatogrammes (fig. 3.17) sont les suivantes:

Phase: (R)-dinitro-3,5-benzoylphénylgyline  
greffée sur du propylamine de gel de  
silice 5 μm.

Colonne: 250 x 4 mm

Solvant: hexane/isopropanol (95:5)

Débit: 2 ml/min.

Temps de rétention obtenus (minutes): isomère (-): 6  
isomère (+): 8

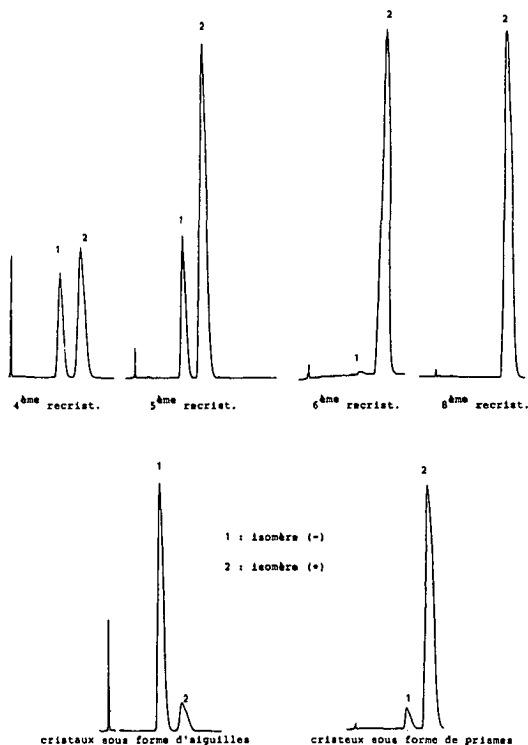
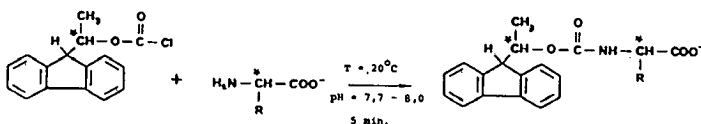


Fig. 3.17

Détermination par HPLC de l'évolution du dédoublement du (-)camphanate de  $\alpha$ -(fluorényl-9)éthyle, et mise en évidence de l'enrichissement diastéréoisomérique des différents cristaux.

La dérivation des acides aminés par (+)FLEC, s'effectue alors très facilement selon des conditions douces (milieu aqueux, température ambiante, pH légèrement basique, temps de réaction court) [42;48].

SCHEMA DE DERIVATION



Les dérivés sont ensuite séparés par HPLC sur phase inversée (fig. 3.18 et fig. 3.19).

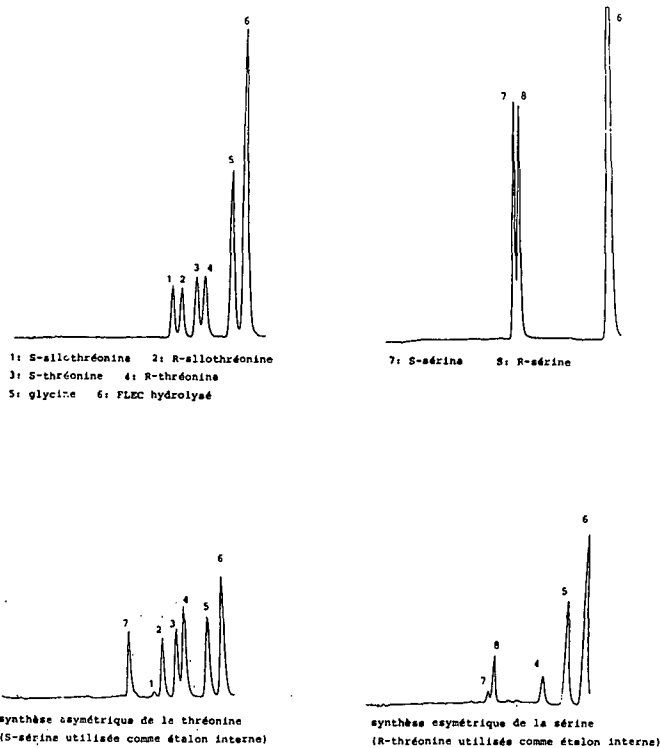


Fig. 3.18

Séparation des isomères de la thréonine et de la sérine;  
analyse de 2 mélanges réactionnels lors de synthèses  
asymétriques.

Temps de rétention obtenus (minutes):

S-sérine: 14,3

R-sérine: 15,0

S-allothréonine: 16,8

R-allothréonine: 17,8

S-thréonine: 19,3

R-thréonine: 20,2

glycine: 23,0

(+)FLEC hydrolysé: 24,4

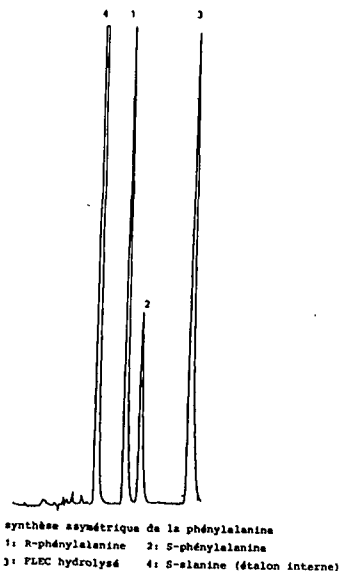
(Selon ces conditions, l'hydroxyméthylsérine montre un temps de rétention de 9,4 minutes).

Les conditions de séparation sont les suivantes pour la thréonine et la sérine:

Colonne: Nucleosil 120-5C<sub>18</sub> (250 x 4 mm)  
Colonne de garde: Nucleosil 120-5C<sub>18</sub> (30 x 4 mm)  
Solvant: H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 0,1 M / CH<sub>3</sub>CN / MeOH (60 : 35 : 5)  
Débit: 0,7 ml/min.

Fig. 3.19

Séparation des isomères  
de la phénylalanine d'un  
mélange réactionnel, lors  
d'une synthèse asymétrique.



Pour la phénylalanine, les conditions sont les suivantes:

Colonne: Nucleosil 100-5C<sub>8</sub> (250 x 4 mm)  
Colonne de garde : Nucleosil 120-5C<sub>18</sub> (30 x 4 mm)  
Solvant: tampon acétate pH 4,8\* / THF (55 : 45)  
Débit: 1,2 ml/min

\* Le tampon acétate est préparé en dissolvant 1,8 ml d'acide acétique pur dans un litre d'eau et en ajustant le pH à 4,8 par NaOH 2 N.

Temps de rétention obtenus (minutes):

R-phénylalanine: 8,3      S-phénylalanine: 9,5  
FLEC hydrolysé : 12,6

Il est intéressant de remarquer qu'il est possible d'inverser l'ordre d'éluion des énantiomères simplement en changeant le solvant. Ainsi, la séparation de la thréonine (fig. 3.18) montre que les isomères S sortent en premier de la colonne, sous les conditions décrites précédemment. Par contre, si le solvant utilisé est le mélange suivant:

tampon acétate pH 4,35 / THF / CH<sub>3</sub>CN (65 : 20 : 15)  
(débit 1 ml/min.)

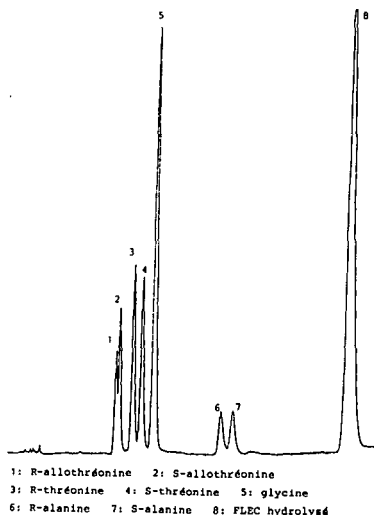
les isomères R sortent en premier (fig 3.20).

Temps de rétention obtenus (minutes):

R-allothréonine: 8,0      S-allothréonine: 8,3  
R-thréonine: 9,3      S-thréonine: 10,0  
gly: 10,9      FLEC hydrolysé : 25,4  
R-alanine: 15,9      S-alanine: 16,8

Fig. 3.20

Autre séparation des  
isomères de la thréonine  
et de l'alanine.



Les avantages de cette méthode d'analyse résident dans sa **simplicité** (une seule élution pour enlever le cuivre, et une seule dérivation quel que soit l'acide aminé), et sa **rapidité** (env. 1 heure pour déterminer la quantité des différents isomères des acides aminés présents dans le mélange réactionnel).

## 4. DISCUSSION

### 4.1 BIS(PYRROLIDINYL-2)-2,6-PYRIDINE (bpp)

La synthèse de bis(pyrrolidinyl-2)-2,6-pyridine conduit à un rapport isomérique bpp-meso/bpp-rac de environ 2. Vu que les carbones asymétriques se forment lors de l'hydrogénation [49], il est possible d'attribuer ce rapport aux différents rotamères planaires du précurseur de bpp (ceux-ci doivent être relativement stables, vu la conjugaison des orbitales lors d'un tel arrangement géométrique).

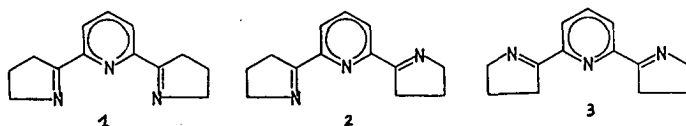


Fig. 4.1

Les 3 rotamères planaires du  
bis(dihydro-3,4-pyrrol-2H-yl-5)-2,6-pyridine.

En effet, si l'on suppose que la réduction des 2 fonctions imines se fait simultanément sur la surface du catalyseur, on remarque que statistiquement 2 rotamères (1 et 3) conduisent au méso, mais un seul (2) au racémate. C'est donc lors de cette étape qu'il faut agir pour augmenter la quantité de ligand racémique (ou optiquement actif directement), si c'est à cet isomère que l'on s'intéresse. Remarquons qu'il serait peut-être possible d'obtenir sélectivement l'isomère meso, en réduisant le bis(dihydro-3,4-pyrrol-2H-yl-5)-2,6-pyridine en présence d'un ion métallique capable de coordonner le rotamère (1) de la fig. 4.1.

La synthèse de bpp est effectuée par analogie à celle de la nornicotine; et souvent, la réduction de la myosmine (précurseur de la nornicotine) est réalisée par le borhydry-

re de sodium ou le cyanoborhydrure de sodium [33,50-52].

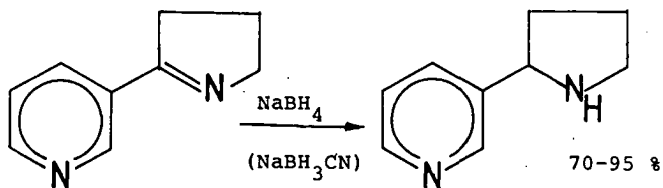


Fig. 4.2

Réduction de la myosmine en nornicotine  
par le borhydrure de sodium.

Des réductions stéréosélectives ont été effectuées ces dernières années avec un grand succès, par l'emploi d'hydrures de bore optiquement actifs, par *H.C. Brown* notamment. Malheureusement, ces réactifs n'ont pas été appliqués à la réduction d'imines, et fonctionnent très bien surtout lors de la réduction de cétones [53].

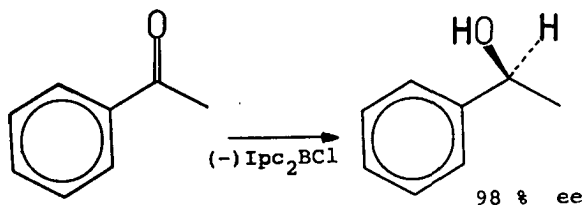


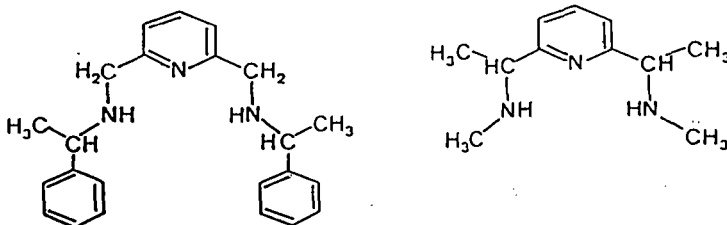
Fig. 4.3

Réduction stéréosélective d'une cétone.  
 $(-)\text{Ipc}_2\text{BCl}$ : chlorure de  $(-)$ diisopinocampheylborane

Néanmoins, il semble qu'il serait judicieux d'essayer de réduire le précurseur de bpp avec un des nombreux dérivés optiquement actif d'hydrure de bore, si l'on s'intéresse à des quantités plus grandes de bpp optiquement pur, vu les difficultés à séparer le mélange brut de ce dernier, et les pertes qui en résultent.

A. Formation de  $[Cu(bpp)]^{2+}$  en solution aqueuse

Il est intéressant de comparer les constantes d'équilibre de protonation de bpp et de formation de complexe de Cu(II), avec celles de ligands analogues utilisés lors de travaux précédents [29,30], ainsi qu'avec d'autres triamines (tableau 4.1).



Bis(aza-2-phényl-3-butyl)-  
2,6-pyridine (bapbp)

Bis(aza-3-butyl-2)-  
2,6-pyridine (babp)

Fig. 4.4

bapbp et babp, deux ligands analogues à bpp.

Les ligands bapbp et babp ont aussi été utilisés lors d'études de réactions énantiosélectives dans des complexes mixtes de type cuivre(II)-base de Schiff.

Les variations des divers constantes de bpp, bapbp et babp se présentent comme une suite logique: plus les pKa sont grands, plus la constante de stabilité avec le cuivre(II) est grande, mais par contre, plus la stabilité des acides aminés dans les complexes mixtes est petite. De ce fait, les acides aminés coordonnés sur le complexe  $[Cu(bpp)]^{2+}$  devraient être moins activés qu'en présence de  $[Cu(bapbp)]^{2+}$  ou  $[Cu(babp)]^{2+}$ ; néanmoins, cette déstabilisation des acides aminés dans le complexe mixte peut présenter un avantage lors de synthèses catalytiques, puisque l'acide aminé formé

dans la réaction sera plus facilement échangé par le substrat.

**Tableau 4.1** Comparaison des constantes d'équilibres de bpp avec d'autres triamines.

ligand L	pK <sub>1</sub>	pK <sub>2</sub>	logK <sub>CuL</sub>	logK <sub>CuL(aa)</sub>	acide aminé
bapbp	7,49	8,57	10,50	4,92	gly
				4,70	ala
babp	9,00	9,80	14,13	4,47	gly
				4,02	ala
bpp-rac	9,39	10,14	16,80	3,74	ala
				3,92	pro
dien <sup>1)</sup>	9,02	9,88	15,90		
bap <sup>2)</sup>	8,82	9,28	15,20		
dpa <sup>3)</sup>	2,60	7,29	14,40		

1) dien: diéthylènetriamine [54]

2) bap: bis(aminométhyl)-2,6-pyridine [55]

3) dpa: di(picoly-2)amine [54]

D'autres part, on remarque que bpp forme avec le cuivre(II), le composé de coordination le plus stable, ce qui peut être attribué en partie à la plus grande basicité de ses groupes amines aliphatiques, mais aussi, vraisemblablement, à la grande rigidité du système formé. Une telle augmentation de la stabilité du complexe due à la rigidité du système pourrait être comparée à ce qui est parfois désigné comme l'effet macrocyclique, et qui est particulièrement prononcé dans les complexes formés par les porphyrines et leurs analogues. bpp libre ayant déjà une géométrie très particulière, l'ato-

me coordinateur n'a pratiquement plus qu'à se placer en son centre afin de fixer la configuration.

## B. Structure de [Cu(bpp)]<sup>2+</sup>solide

La structure de l'ion [Cu(bpp-rac)]<sup>2+</sup>, comme elle a été déterminée par diffraction aux rayons-X et décrite en détail dans le chapitre 3 "résultats", montre l'exactitude des prévisions concernant la conformation du ligand: un cycle pyrrolidine se trouve devant le plan de la pyridine, l'autre derrière.

Il est ainsi visible que l'approche d'un substrat fixé sur le cuivre(II) se fera préférentiellement d'un côté plutôt que de l'autre, les cycles pyrrolidines jouant le rôle de la gêne stérique (nous reviendrons en détail sur la gêne stérique exercée par bpp lors de la discussion concernant la synthèse de la thréonine).

En ce qui concerne la structure en forme de polymère de coordination, obtenue avec le complexe optiquement pur, ([Cu(+)bpp]<sub>3</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>(acide (-)di-o,o'-p-toluyl-L-tartrique))<sub>n</sub>, il faut remarquer la particularité de la longueur de liaison entre le Cu(II) et un des ions sulfates: en effet, la distance de liaison de 1,9 Å entre le Cu(II) et un oxygène du sulfate le plus proche, montre que ce ion est directement coordonné sur le Cu(II).

Une autre particularité de cette substance, est sa structure secondaire; c'est un polymère de coordination qui est enroulé autour d'un axe.

Bien que le polymère soit linéaire, la structure obtenue aux rayons-X montre que le cuivre(II) tourne autour de l'axe de propagation, et en même temps, le complexe tourne sur lui-même autour de son axe C<sub>2</sub>.

Ces structures sous forme hélicoïdale ne sont pas très fréquentes, néanmoins on en trouve quelques exemples dans la littérature [56].

Vu la conformation de bpp optiquement pur autour du cuivre, il est plausible de dire que les rotations du complexe sont dues à l'arrangement spatial de bpp, qui est en quelque sorte "enroulé" autour du cuivre(II): la structure du complexe

donne alors l'impulsion nécessaire à la formation d'un polymère de structure hélicoïdale.

Il faut remarquer encore, qu'à ce jour, la structure du complexe optiquement pur sous forme de simple perchlorate ( $[\text{Cu}(+)\text{bpp}](\text{ClO}_4)_2$ ), obtenu de la même manière que le complexe racémique n'a pas été résolue. Toutefois, selon les premières analyses aux rayons-X, il s'agirait également d'un polymère de coordination.

#### 4.3 FORMATION DE LA THREONINE

La vitesse de formation de la thréonine en présence du ligand auxiliaire bpp est relativement lente (environ 20 heures pour atteindre l'équilibre, à pH 10,5, et avec 1 seul équivalent d'acide pyruvique), si on la compare à la vitesse de la même réaction observée par H. Su [30] avec le ligand bapbp (environ 2 heures pour atteindre un équilibre à pH 9,8 et avec 1 seul équivalent d'acide pyruvique).

Comme le mentionne la littérature [18,19], la réaction en milieu basique de la glycine coordonnée sous forme de base de Schiff, commence par une déprotonation et formation d'un carbanion (fig. 4.5). La vitesse de la réaction dépend ainsi de la dissociation du proton du carbone  $\alpha$  de la glycine.

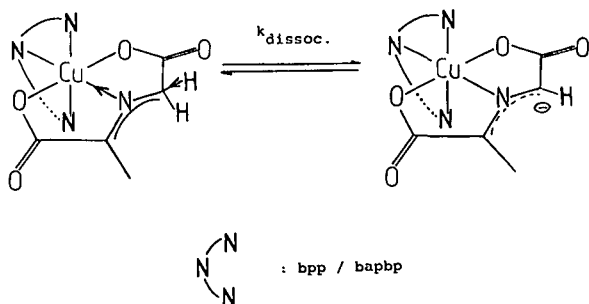
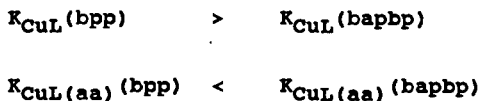


fig. 4.5

Dissociation du proton du carbone  $\alpha$  de la glycine  
coordonnée sous forme de base de Schiff

En tenant compte de ce fait, la vitesse relative de formation de la thréonine peut être expliquée sur la base des différences de stabilité des espèces réactives. Au chapitre précédent, nous avons comparé les valeurs des constantes de stabilité des ligands bpp et bapbp; il en ressortait que:



En d'autres termes, le complexe CuL est plus stable avec bpp, par contre, l'acide aminé dans le complexe mixte en présence de bpp est déstabilisé par rapport à l'acide aminé dans le complexe mixte formé avec bapbp.

Si l'on applique maintenant ce résultat au complexe mixte formé avec, non pas un acide aminé, mais une base de Schiff, il en découle que cette dernière en présence de  $[\text{Cu}(\text{bpp})]^{2+}$  est moins activée que celle formée avec  $[\text{Cu}(\text{bapbp})]^{2+}$ , et ainsi devrait réagir moins vite.

En ce qui concerne l'excès énantiomérique des synthèses asymétriques en présence de  $[\text{Cu}(+)\text{bpp}]^{2+}$ , on peut constater qu'il varie relativement peu en fonction des conditions réactionnelles, et se situe entre 13% et 17% pour la thréonine, et entre 73% et 90% pour l'allothréonine. Il est néanmoins visible que l'excès énantiomérique varie en fonction de la température. En prenant les moyennes des résultats obtenus, on observe pour la thréonine un excès énantiomérique de 20 +/- 3% à 0°C, de 17 +/- 1% à 20°C et de 15 +/- 2% à 50°C. Pour l'allothréonine, les excès énantiomériques sont de >90% à 0°C, de 85 +/- 3% à 20°C et de 73% à 50°C. Ce qui correspond en terme de différence d'énergie libre d'activation ( $\Delta\Delta G^\ddagger$ ), aux énergies suivantes: pour la thréonine, 0,9 kJ à 0°C, 0,9 kJ à 20°C et 0,8 kJ à 50°C. Pour l'allothréonine, 6,7 kJ à 0°C, 6,2 kJ à 20°C et 5,0 kJ à 50°C. On remarque ainsi, que pour passer de 73% à 90% d'excès énantiomérique, il faut un gain de différence d'énergie d'activation de pratiquement 2 kJ, ce qui est beaucoup comparé à la valeur absolue de ces énergies.

La vitesse de réaction peut être accélérée par augmentation de la température, ou un excès de pyruvate, mais aussi par un accroissement du pH. Ce dernier doit cependant se trouver entre 10,5 et 9,5, car à des pH plus élevés la décomposition des acides aminés devient une réaction secondaire importante, et à des pH plus bas la réaction de formation de la thréonine devient si lente qu'elle n'est pratiquement plus perceptible.

Si les excès énantiomériques varient peu, on remarque aussi que la quantité de thréonine est toujours nettement supérieure à celle d'allothréonine (le rapport thr./allothr. est d'environ 3).

De plus, le très grand excès énantiomérique observé pour l'allothréonine n'est nullement comparable avec les autres, mesurés dans ce travail.

Il a été montré que lorsque la glycine réagit en milieu basique sous forme de base de Schiff coordonnée sur un métal, la première étape est la formation d'un carbanion [18,19], par déprotonation du méthylène activé de la glycine. Mais la différenciation de l'hydrogène pro-S ou pro-R de la glycine par le ligand ne doit pas être la seule explication à ce phénomène.

Certaines études, menées sur le même genre de réactions ont montré que la réaction avec les aldéhydes peut se dérouler par la formation d'un produit intermédiaire cyclique genre oxazolidine [18,19,57,58].

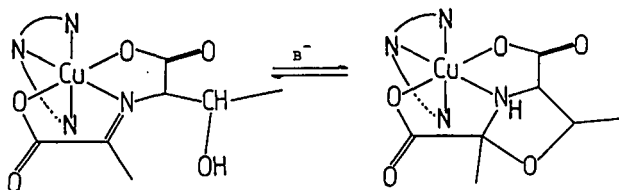


Fig. 4.6

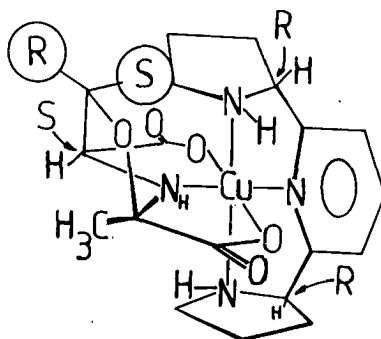
Formation d'une oxazolidine  
par cyclisation intramoléculaire.

Ainsi, par construction de modèles moléculaires, il est possible de montrer que l'isomère S-allothréonine est nettement défavorisé stériquement par rapport à son antipode optique, si la réaction a lieu en présence du complexe  $[Cu(RR)bpp]^{2+}$ . La situation pour les deux énantiomères est représentée pour la thréonine et l'allothréonine dans la fig. 4.7.

Il est intéressant de noter ici que la configuration absolue du ligand (+) ou (-)bpp a d'abord été provisoirement attribuée (R,R pour l'isomère dextrogyre) sur la base de la formation préférentielle de R-allothréonine dans la réaction de

[Cu(+)*bpp*(pyrgly)] avec l'aldéhyde acétique. Cette hypothèse a ensuite été confirmée par la détermination aux rayons-X de la configuration absolue de [Cu(R,R)-(+)*bpp*]<sup>2+</sup>. Cette synthèse constitue donc un des rares cas de synthèse asymétrique dans lequel la configuration absolue du produit peut être prévue sur la base de la configuration absolue du réactif auxiliaire.

a)



b)

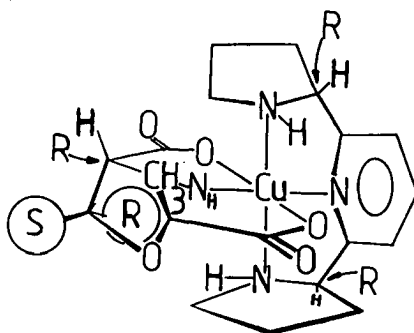


Fig 4.7

Les complexes mixtes après condensation de l'acétaldéhyde sur la base de Schiff et formation d'une oxazolidine.

a) Intermédiaire conduisant à S-thr. et S-allothr.

b) Intermédiaire conduisant à R-thr. et R-allothr.

(les cercles entourant les lettres R et S représentent un groupe méthyle)

D'autre part, la stéréosélectivité de la réaction peut s'exprimer d'une manière différente: En tenant compte des 4 isomères, il est possible de calculer la sélectivité moyenne sur le carbone  $\alpha$  (carbone de la glycine) et le carbone  $\beta$ . Sur le carbone  $\alpha$ , l'excès énantiomérique est en moyenne de 30% en faveur des isomères R. Une représentation schématique des hydrogènes pro-R et pro-S de la glycine coordonnée sous forme de base de Schiff sur le complexe  $[\text{Cu}(\text{R,R})\text{bpp}]^{2+}$  permet d'expliquer ce résultat.

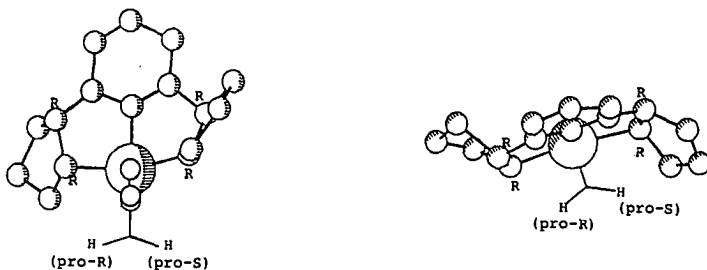


Fig. 4.8

Vue de face et de dessus du complexe mixte  
 $[\text{Cu}(\text{R,R})\text{bpp}(\text{pyruvylidène}(\text{glycinate}))]$ .

En conclusion, les stéréosélectivités observées découlent de 2 effets: d'une part, une gêne stérique du complexe conduit préférentiellement aux isomères R, pour autant que le ligand employé soit de configuration (R,R). D'autre part, il y a formation d'un intermédiaire cyclique (oxazolidine), qui permet alors une différenciation très nette entre les isomères optiques de l'allothréonine. Ces 2 effets peuvent agir simultanément: de ce fait l'approche et l'arrangement spatial de l'acétaldéhyde par rapport au complexe dépendent de la géométrie du ligand auxiliaire (fig. 4.9).

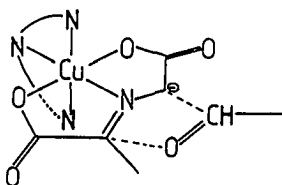
Une situation intermédiaire pourrait ainsi se former sous l'influence d'une base, et subirait par la suite un réarrangement électronique concerté conduisant aux produits.

Remarquons encore, qu'un intermédiaire cyclique du genre oxazolidine doit être relativement stable dans les conditions de réactions étudiées. En effet, toute tentative de

rendre le système catalytique, en ajoutant un grand excès de glycine et d'acide pyruvique, ont conduit à un échec: il semble que l'échange entre la thréonine et la glycine ou entre le pyruvylidènthréoninate et le pyruvylidèneglycinate n'ait pas lieu selon nos conditions opératoires, ou qu'il soit très lent.

Fig. 4.9

Une situation de réaction supposée.



#### 4.4 FORMATION DE LA SERINE

Si l'on considère les résultats obtenus lors de la formation de la sérine par la condensation de [Cu(+)*bpp*(*pyrgly*)] avec l'aldéhyde formique en milieu aqueux, on constate une forte similitude avec les résultats obtenus lors de la formation de la thréonine. En effet, la réaction a lieu de manière optimale près de pH 10 (plus haut il y a décomposition des acides aminés) et l'excès énantiomérique observé atteint pratiquement 30% en faveur de l'isomère R, pour autant que le ligand utilisé ait la configuration (R,R). Les mêmes considérations mécanistiques que pour la synthèse de la thréonine sont donc valables.

Lors de cette réaction en présence du ligand auxiliaire (+)*bpp*, aucune formation du produit disubstitué (hydroxyméthylsérine) a été observée. Ceci est intéressant en comparaison avec les résultats obtenus par *Casella et coll.* [21], qui ont invariablement trouvé l'hydroxyméthylsérine lors de la condensation du formaldéhyde sur la glycine ou la glycine sous forme de base de Schiff, coordonnée sur Co(III), Cu(II) ou Ni(II). On peut ainsi constater que la présence du ligand empêche la formation du produit disubstitué, empêchement qui devrait être d'autant plus grand si la réaction se déroule par formation d'un intermédiaire oxazolidine.

Lorsque la réaction est effectuée dans le méthanol comme solvant, et en présence de MeONa comme base, les résultats diffèrent de ceux obtenus précédemment. En effet, la réaction devient plus rapide (pratiquement terminée en moins de 20 minutes) et l'excès énantiomérique monte à 58% en faveur de l'isomère R, c'est à dire pratiquement le double.

Il semble d'autre part que la réaction conduise à une situation d'équilibre, et une racémisation du produit formé se manifeste après que le rendement ait atteint environ 50%. Ce comportement pourrait indiquer qu'il n'y ait pas, dans ce cas, formation d'une structure du type oxazolidine permet-

tant de stabiliser le produit. L'augmentation de la vitesse peut être expliquée par une déprotonation favorisée par la plus grande basicité du milieu réactionnel. La stéréosélectivité plus élevée dans le milieu  $\text{MeO}^-/\text{MeOH}$  est difficile à expliquer à l'aide des résultats obtenus jusqu'à présent.

Pour la même réaction, avec un système semblable, *Belokon et coll.* [19] ont observé une inversion de la chiralité du produit en passant d'un milieu  $\text{NR}_3/\text{H}_2\text{O}$  à  $\text{CH}_3\text{O}^-/\text{CH}_3\text{OH}$ . Ces auteurs ont expliqué cette inversion par une coordination différente du produit sur le métal. Cette hypothèse implique que la sélectivité est de nature thermodynamique et que le produit est équilibré selon la stabilité relative des complexes mixtes diastéréoisomères. Cette explication ne peut cependant pas être avancée pour le cas décrit dans ce travail, puisque le produit obtenu dans les deux milieux réactionnels possède la même configuration.

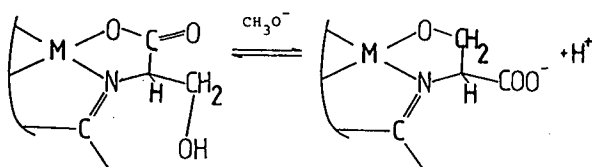


Fig. 4.10

Produit intermédiaire de réaction, selon *Belokon*.

Lors de la réaction dans  $\text{MeOH}$  avec  $\text{MeONa}$  comme base, le système peut être rendu catalytique. Si l'on utilise un excès de glycine et d'acide pyruvique dans le mélange réactionnel de départ, on obtient une quantité plus grande de sérine par rapport au complexe engagé (il est connu [19] que la réaction en absence de métal n'a pratiquement pas lieu, vu la faible acidité des protons du groupe méthylène de la glycine).

L'échange des acides aminés se déroule donc suffisamment rapidement pour permettre à la réaction d'avancer selon un cycle catalytique. On constate cependant que le produit obtenu montre une activité optique nettement plus faible comparée à

celle de la réaction stoechiométrique. En fait, il existe à ce sujet une ambiguïté: il n'est pas possible de dire si la faible sélectivité observée est imputable à une racémisation du produit lors ou avant l'échange des acides aminés, ou à la formation d'un nouveau complexe mixte achiral [Cu(gly)(pyrgly)] par échange du ligand auxiliaire (+)bpp avec la glycine.

#### 4.5 TRANSAMINATION DU PHENYLPYRUVATE EN PHENYLALANINE

Dans les études précédentes qui ont été effectuées dans notre département [26-29], l'étude de la réaction de transamination était limitée à un domaine pH situé entre 4 et 5,5 et au seul ligand auxiliaire bapbp. En plus de l'utilisation du nouveau ligand bpp, le but du présent travail est de trouver des conditions optimales de la réaction.

La réaction de transamination entre la pyridoxamine et l'acide phénylpyruvique en présence de  $[\text{Cu}(+)\text{bpp}]^{2+}$  a été observée par mesure spectrophotométrique dans l'UV, et par analyse du mélange réactionnel par HPLC. Pour les conditions réactionnelles suivantes:  $[\text{Cu}(+)\text{bpp}^{2+}] = C_0 = 2.10^{-3} \text{ M}$ ;  $[\text{pyridoxamine}] = C_0$ ;  $[\text{phénylpyruvate}] = 15 C_0$ ;  $t = 20^\circ\text{C}$ ; milieu aqueux tamponné 0,1 M, les principales observations peuvent être résumées de la manière suivante:

1. De pH = 4 à pH = 6 une bande d'absorption apparaît à 380 nm, montrant la présence du complexe Cu-aldimine ou Cu-aldimine-bpp.
2. L'apparition de la bande d'absorption à 380 nm et la formation de phénylalanine ne sont pas synchrones: la formation de phénylalanine continue après que l'absorption à 380 nm ait atteint sa valeur maximale.
3. La phénylalanine obtenue en dessous de pH = 6 est racémique.
4. Au dessus de pH = 6 la réaction devient stéréosélective et la stéréosélectivité atteint un maximum de 30% à partir de pH = 8. De plus, le produit est optiquement stable, c'est à dire qu'aucune racémisation n'est observée pendant le temps nécessaire à une transamination complète.
5. A partir de pH = 10 la situation devient moins favorable. En effet, dans ces conditions, on observe une décomposition

de l'acide aminé, similaire à celle remarquée lors de la synthèse de la thréonine et de la sérine (cf. p. 34 et 42). De plus, le produit subit une lente racémisation diminuant ainsi l'excès énantiomérique obtenu.

6. La réaction peut être conduite de manière catalytique. Dans ce cas, la réaction a été examinée pour un pH de 7 à 8, et jusqu'à un rapport  $[\text{Cu}(+)\text{bpp}]^{2+}$  : (cétoacide + pyridoxamine) = 1 : 10. Lors de chaque essais, la stéréosélectivité correspond à celle de la réaction stoechiométrique, et le produit est optiquement stable. Par contre, le rendement chimique de la réaction diminue à mesure que le rapport catalyseur/substrat diminue, pour atteindre une proportion cétoacide : acide aminé d'environ 1.

Si nous comparons ces résultats avec ceux obtenus avec bapbp comme ligand auxiliaire, nous constatons quelques différences importantes. Dans ce système, la transamination n'est pas seulement sensiblement plus rapide, mais elle montre une très importante stéréosélectivité également en milieu légèrement acide; par contre, le produit racémise entièrement par la suite. De plus, l'apparition de la bande dans l'UV et la formation de phénylalanine sont parfaitement synchrones.

Ces différences doivent être la conséquence de la nature différente des deux ligands auxiliaires. Selon la *fig. 4.11*, on peut supposer que parmi les facteurs qui contrôllent la réaction, les plus importants sont le pH du milieu réactionnel, et la tendance de coordination du ligand sur le cuivre dans les différents complexes qui participent à la réaction. Par le fait que le ligand bpp est fortement basique ( $\text{pK}_{a1} = 9,39$ ;  $\text{pK}_{a2} = 10,14$ ) et forme un complexe de cuivre très stable ( $\log K = 16,80$ ), cependant que bapbp est faiblement basique ( $\text{pK}_{a1} = 7,49$ ;  $\text{pK}_{a2} = 8,57$ ) et forme des complexes peu stables ( $\log K = 10,50$ ), on peut admettre des voies réactionnelles différentes, qui expliquent le comportement différent des deux systèmes. La *fig. 4.11* montre les équilibres des espèces les plus importantes, ainsi que les voies de réactions les plus probables.

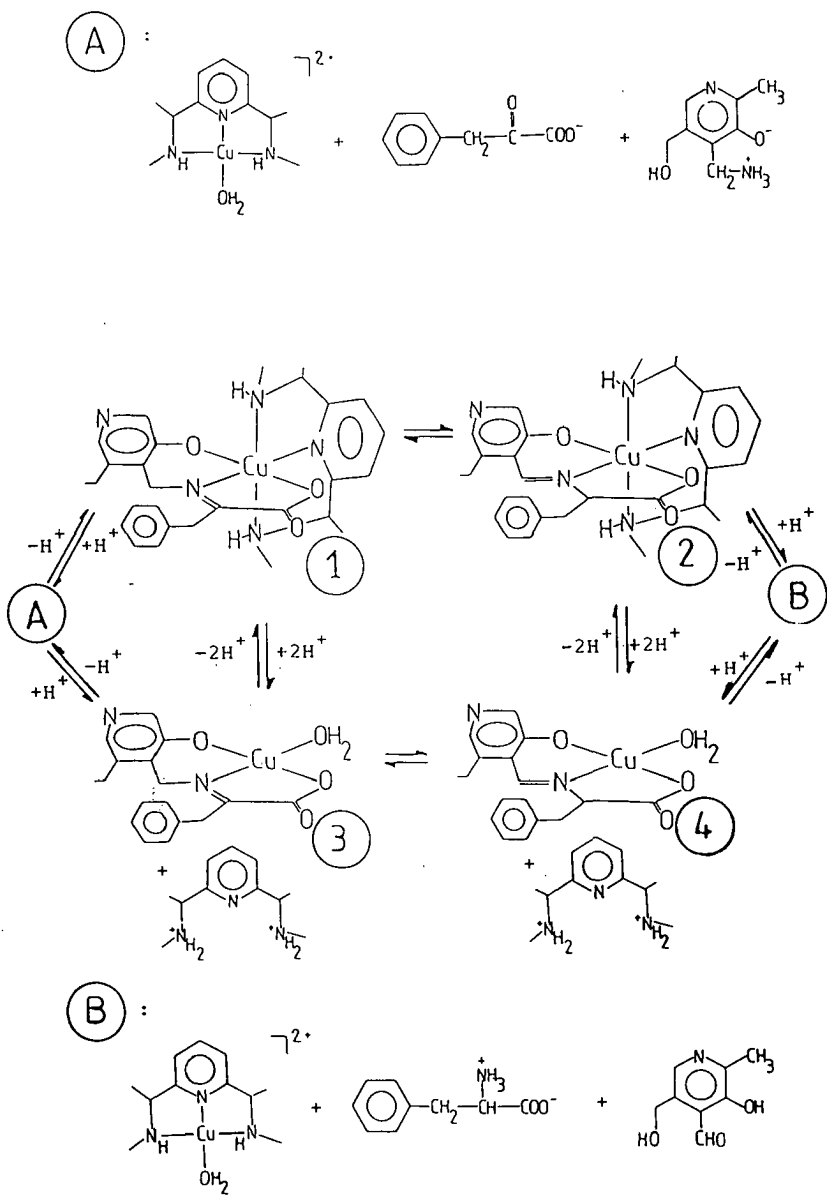


Fig. 4.11

Schéma réactionnel des différents complexes permettant la transamination du phénylpyruvate en phénylalanine.

Ainsi la réaction en présence de bapbp se déroulerait par la voie suivante (fig. 4.11) :



Avec le ligand bpp, par contre, la voie réactionnel serait (fig. 4.11) :

- en milieu acide (pH < 6) :



L'équilibre entre les situations "4" et "2" est admis par le fait que l'absorption UV à 380 nm progresse avec la réaction à pH < 6 en présence de bpp, mais a néanmoins une allure légèrement différente que la bande d'absorption UV observée pour la réaction en présence de bapbp (dont le maximum se situe d'ailleurs à 390 nm).

- en milieu neutre ou alcalin :



Le fait qu'un excès énantiomérique de 30% soit observé, permet deux hypothèses: a) seul 30% de la réaction a lieu par la voie indiquée ci-dessus, une réaction concurrente existerait par  $A \longrightarrow 3 \longrightarrow 4 \longrightarrow B$ , et conduirait ainsi au produit racémique. b) Le ligand auxiliaire n'induit une stéréosélectivité que de 30%.

L'hypothèse b) est la plus probable, car quelques essais de synthèses ont été menés en présence d'un excès de (+)bpp par rapport au Cu(II), sans aucun changement de l'activité optique du produit obtenu en comparaison aux synthèses effectuées en présence d'un seul équivalent de bpp.

L'équilibre "global" entre la situation A et la situation B doit probablement se situer autour de 1, vu que les produits de départ et d'arrivée se ressemblent beaucoup. Par contre, l'équilibre entre les situations 2 et B est fortement situé

à droite, comme le montre nos résultats.

De ce fait, lorsque la réaction a lieu avec 1 équivalent de pyridoxamine par rapport au cuivre, nous obtenons pratiquement quantitativement la phénylalanine. Mais si la pyridoxamine est en excès, alors la réaction s'arrête lorsque l'équilibre "global" est atteint.

Pour avoir un système catalytique plus efficace, il faudrait trouver un moyen d'éliminer l'aldimine ou la phénylalanine du milieu réactionnel.

#### Remarque finale

Nous observons que les 3 réactions étudiées dans le cadre de ce travail, en présence du ligand auxiliaire (R,R)bpp, montre une stéréosélectivité de 30% (en faveur des isomères R), pour autant que l'on travaille dans l'eau.

Cette remarquable similitude montre que si l'on choisit convenablement le centre inducteur chiral, il est possible d'obtenir une induction asymétrique bien définie, malgré la complexité du système (complexes labiles engendrant d'innombrables équilibres).

## 5. PARTIE EXPERIMENTALE

### 5.1 APPAREILLAGES UTILISES

Résonnance magnétique nucléaire: Bruker WP 200

Spectrométrie de masse: Normay R-30-10

Polarimétrie: Perkin-Elmer 241

Spectrophotométrie: Uvikon 820

Spectropolarimétrie: Jasco J-500-C

Chromatographie liquide à haute performance : Perkin-Elmer

- Serie 10

- LCI-100

- Tridet

Thermogravimétrie: Mettler TG 50

Rayons-X : Diffractomètre à 4 cercles Siemens-Stoe AED2

- monochromateur au graphite ( $\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$ )

- radiations  $\text{MoK}_\alpha$

### 5.2 SYNTHÈSE DE BIS(DIHYDRO-3,4-PYRROL-2H-YL-5)-2,6-PYRIDINE

A une suspension de 20,55 g (11,31 g pur; 0,471 mol) de NaH dans 150 ml de THF sec, est ajoutée une solution de 36,6 g (0,33 mol) de N-vinylpyrrolidone-2, et 34,8 g (0,156 mol) d'ester éthylique de l'acide pyridine-2,6-dicarboxylique dans 200 ml de THF anhydre. La suspension est chauffée légèrement jusqu'au début de la réaction (env. 5 min.), refroidie ensuite avec un bain eau-glace, jusqu'à que l'important

dégagement d'hydrogène cesse\*, et finalement chauffée à reflux. Après 30 minutes, un solide jaune, pâteux est obtenu; il est refroidi à température ambiante et hydrolysé avec une solution de 60 ml de HCl conc. dans 90 ml d'eau. Le THF est retiré sous vide, une solution de 90 ml de HCl conc. dans 180 ml d'eau est additionnée et la solution portée à reflux toute la nuit. Une solution de 75 g de NaOH dans environ 200 ml d'eau est ajoutée au mélange réactionnel, à 0°C, pour le rendre basique: le produit précipite; il est extrait au dichlorométhane, séché sur MgSO<sub>4</sub> anhydre, puis évaporé à sec: 26,4 g de produit brut (brun-noir) sont obtenus, soit un rendement de 79%. Le solide est redissous dans un mélange EtOH/Et<sub>2</sub>O/ligroïne 4:3:3 (500 ml), passé sur une colonne (300 ml) contenant 130 g d'oxyde d'aluminium (507 C), et élué avec Et<sub>2</sub>O/ligroïne 1:1. L'éluat est concentré, et Et<sub>2</sub>O est ajouté jusqu'à ce que le rapport Et<sub>2</sub>O/EtOH soit d'environ 3:1. Le produit est alors précipité sous forme de chlorhydrate par HCl conc. (15 ml), filtré, séché, puis neutralisé à chaud, dans l'eau avec NaOH 0,2 N; 13,1 g de solide cristallin sont obtenus, soit un rendement de 39%. Un petit échantillon est recristallisé dans l'eau : de fins cristaux blancs sont obtenus. F = 132°C.

\* Il faut faire particulièrement attention lors de cette étape; les quantités de produits engagées font que la réaction se déroule à la limite de la sécurité.

#### Analyse

<sup>1</sup>H-RMN (200 MHz; CDCl<sub>3</sub>): 2,04 (q,4H); 3,15 (t,4H); 4,14 (t,4H); 7,80 (t,1H); 8,13 (d,2H).

MS: M<sup>+</sup> : 213

#### 5.3 SYNTHÈSE DE BIS(PYRROLIDINYL-2)-2,6-PYRIDINE (bpd)

5 g (23,5 mmol) de bis(dihydro-3,4-pyrrol-2H-yl-5)-2,6-pyridine sont dissous dans environ 300 ml d'éthanol absolu.

2 pointes de spatules de Pd/C (10%) sont ajoutés, et le produit est hydrogéné à 5 atm. à temp. ambiante pendant 15 heures. La solution est filtrée, évaporée à sec et distillée sous vide poussé: 4,4 g d'huile incolore sont obtenus, soit un rendement de 86%. Eb = 96°C (5.10<sup>-3</sup> mmHg).

### Analyses

<sup>1</sup>H-RMN (200 MHz; CDCl<sub>3</sub>): 1,74 (m,2H); 1,85 (q,4H); 2,20 (m,2H); 2,60 (s,2H); 3,00 (m,2H); 3,22 (m,2H); 4,22 (t,2H); 7,17 (d,2H); 7,58 (t,1H).

MS: M<sup>+</sup> : 217

CHN: calculé pour C<sub>13</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>(217): C 71,9; H 8,8; N 19,4;  
C/N 4,33

trouvé: C 69,4; H 9,0; N 18,6; C/N 4,35

UV: λ<sub>max</sub> = 262 nm (ε = 4400)

### 54 SYNTHÈSE DE BIS[N-(p-NITROBENZOYL)PYRROLIDINYL-2]-2,6-PYRIDINE (bnpp)

10 g (54 mmol) de chlorure de p-nitrobenzoyle sont ajoutés à une solution de 5 g (23 mmol) de bpp dans 20 g (252 mmol) de pyridine, sous agitation. La solution est maintenue 2 heures à température ambiante, puis 1 heure à environ 80°C. 70 ml de HCl 2 N sont ajoutés, ainsi que 100 ml de dichlorométhane, le tout transvasé dans un entonnoir à séparation. La phase aqueuse est retirée, puis la phase organique est lavée avec HCl 2 N (2 x 50 ml), Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> sat. (1 x 50 ml) et à l'eau (3 x 50 ml), séchée sur MgSO<sub>4</sub> anhydre, filtrée et évaporée à sec : 11,2 g de solide orange sont obtenus, soit un rendement de 94%.

### Analyses

<sup>1</sup>H-RMN (200 MHz; CDCl<sub>3</sub>): 1,97 (m,2H); 2,07 (m,4H); 2,41

(m,2H); 3,55 (q,2H); 3,97 (t,2H); 7,15 (d,2H); 7,22 (d,2H); 7,45 (t,1H); 7,78 (d,2H); 7,97 (d,2H); 8,29 (d,2H).

MS: M<sup>+</sup> : 515

#### 5.5 DIFFERENCIATION DE bnpp-MESO ET bnpp-RAC

Un petit échantillon de bnpp-brut (env. 150 mg) est passé sur une colonne (100 x 3 cm) contenant 250 g de cellulose triacétate, et élué avec H<sub>2</sub>O/MeOH (1:5). L'éluat est analysé par UV (260 nm) et polarimétrie (436 nm). Deux bandes nettement séparées sont observées en UV, dont la première ne montre aucune activité optique. Lorsque la deuxième est éluee, l'angle de rotation montre tout d'abord une valeur positive, qui décroît petit à petit jusqu'à zéro, puis qui devient négative. Les deux bandes sont analysées par CCM (gel de silice F<sub>254</sub> ; AcOEt/EtOH 50:1): R<sub>F</sub> = 0,46 (bande 1); R<sub>F</sub> = 0,30 (bande 2). De ce fait, il en est déduit que bnpp-meso sort en premier d'une colonne de gel de silice, éluee avec AcOEt/EtOH 50:1.

#### 5.6 SEPARATION DE bnpp-MESO ET bnpp-RAC

Une solution composée de 50 g de bnpp-brut dans 700 ml de AcOEt/EtOH (50:1) est passée sur une colonne (50 x 12 cm) contenant 3 kg de gel de silice 60F<sub>254</sub>, et élué avec AcOEt/EtOH (50:1) avec un débit de environ 10 ml/min. Les produits sont identifiés à la sortie de la colonne par mesure de l'absorption à 350 nm. Après 2 jours bnpp-meso sort de la colonne, suivi de bnpp-rac 2 jours plus tard. 3 fractions sont collectées: bnpp-meso pur (31 g), le mélange (1 g), et bnpp-rac pur (15 g)

### 5.7 HYDROLYSE DE bnpp EN bpp

Une solution de 10 g (19 mmol) de bnpp dans 50 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 70% est chauffé à 150°C pendant 30 minutes. le mélange réactionnel est refroidi par un bain de glace, dilué avec 100 ml d'eau, et basifié par 200 ml d'une solution contenant 45 g de NaOH. Le produit est extrait au dichlorométhane (5 x 150 ml), les phases organiques réunies sont lavées à l'eau (1 x 100 ml), séchées sur MgSO<sub>4</sub> anhydre et évaporées à sec. Le résidu est distillé sous vide poussé: 2,8 g de bpp sont obtenus, soit un rendement de 66%.

### 5.8 DEDOUBLEMENT DE bpp

2 solutions, préparées l'une par dissolution de 5,05 g (23,3 mmol) de bpp-rac dans 50 ml de EtOH, l'autre par dissolution de 18,83 g (46,4 mmol) d'acide (-)di-o,o'-p-toluyl-L-tartrique dans 50 ml de EtOH et 20 ml d'eau, sont chauffées, puis mélangées. Après une nuit au réfrigérateur (+ 4°C), 12,0 g (50%) de cristaux sont recueillis par filtration. Une recristallisation dans un mélange eau (120 ml)/EtOH (140 ml), donne 10,13 g (42,4%) de produit pur.

$[\alpha]_{365} = - 512$ ;  $[\alpha]_{589} = - 98$  (c = 0,055; MeOH).

(+)bpp est isolé par passage d'une solution d'un échantillon du sel pur dans un mélange eau/alcool sur une petite colonne contenant une phase échangeuse d'ion Dowex-1 chargée en OH<sup>-</sup>.

$[\alpha]_{365} = + 378$ ;  $[\alpha]_{589} = + 126$  (c = 0,1; H<sub>2</sub>O).

Le même procédé appliqué à bpp récupéré des eaux-mères lors de la résolution de l'isomère dextrogyre, mais en utilisant cette fois-ci l'antipode optique de l'agent de dédoublement, permet d'obtenir (-)bpp[(+)di-o,o'-p-toluyl-D-tartrate]<sub>2</sub>.

$[\alpha]_{365} = + 521$ ;  $[\alpha]_{589} = + 99$  (c = 0,055; MeOH).

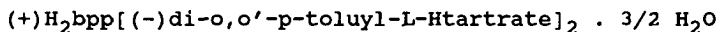
Puis, (-)bpp est obtenu comme précédemment.

$[\alpha]_{365} = - 340$ ;  $[\alpha]_{589} = - 113$  (c = 0,1; H<sub>2</sub>O).

### 5.9 CARACTERISATION DE (+)bpp[(-)DI-O,O'-p-TOLUYL-L-TARTRATE]<sub>2</sub>

Une analyse thermogravimétrique des 2 sels obtenus lors du dédoublement de bpp, montre que tous deux contiennent 3/2 molécules d'eau de cristallisation.

La titration potentiométrique de 0,2208 g du sel, obtenu lors du dédoublement de (+)bpp, par NaOH  $4,976 \cdot 10^{-2}$  M, montre 2 sauts. Le premier à 9,05 ml de NaOH (pH 6,8), le deuxième à 17,50 ml de NaOH (pH 10,8). Cela indique qu'il y a 2 équivalents d'agent de dédoublement, protoné 1 fois chacun, par équivalent de bpp. De plus, le poids moléculaire (PM) obtenu en tenant compte du deuxième point d'équivalence (4 protons titrés) est de 1014. Théoriquement, le PM est de 1016,7 si l'on tient compte de la formule suivante:



### 5.10 DERIVATION DE bpp AFIN D'EN DETERMINER LA PURETE OPTIQUE

#### *A. DERIVATION PAR LE CHLORURE DE CAMPHANYLE; ANALYSE PAR HPLC*

A une solution de 30 mg de S(-)chlorure de camphanyle dans 15 gouttes de pyridine, est ajouté 1 goutte de bpp. Après 10 minutes, 2 ml de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  sont ajoutés, le mélange réactionnel lavé avec HCl 1 M (3 x 2 ml),  $\text{H}_2\text{O}$  (2 x 2 ml), séché sur  $\text{MgSO}_4$  anhydre et filtré. L'analyse par HPLC du dérivé obtenu permet de déterminer la pureté optique de bpp (cf résultats).

#### *B. DERIVATION PAR LE CHLORURE DE $\alpha$ -METHOXY- $\alpha$ -TRIFLUOROMETHYL-PHENYLACETYLE; ANALYSE PAR $^{19}\text{F}$ -RMN*

A 2 gouttes de chlorure de S(-)- $\alpha$ -methoxy- $\alpha$ -trifluorométhyl-phénylacétyle dans 5 gouttes de  $\text{CCl}_4$  et 5 gouttes de pyridine, est ajouté 1 goutte de bpp. Après 2 heures, 20 ml d'éther et 1 ml d'eau sont ajoutés, le mélange réactionnel lavé avec HCl 2 N (2 x 10 ml),  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  sat. (2 x 10 ml),  $\text{H}_2\text{O}$  (3 x

10 ml), séché sur  $\text{MgSO}_4$  anhydre, filtré et évaporé à sec. L'analyse par  $^{19}\text{F}$ -RMN du dérivé obtenu permet aussi de déterminer la pureté optique de bpp (cf résultats).

### 5.11 TITRATIONS POTENTIOMETRIQUES

Toutes les titrations ont été réalisées dans de l'eau bidistillée, sous atmosphère d'azote, à  $25^\circ\text{C}$  et en présence de  $\text{KNO}_3$  0,1 M. Les concentrations en bpp,  $\text{Cu}^{2+}$  et acide aminé étaient de l'ordre de  $3 \cdot 10^{-3}$  M, le NaOH utilisé pour titrer de 0,1 M. Un excès connu d'acide chlorhydrique est ajouté à chaque solution à titrer, de sorte que la concentration en proton soit d'environ  $10^{-2}$  M au départ.

### 5.12 SYNTHÈSE DU COMPLEXE $[\text{Cu}(\text{bpp})(\text{H}_2\text{O})(\text{ClO}_4)_2]$

Une solution contenant un même nombre d'équivalent de  $\text{Cu}^{2+}$  et de bpp, à pH 6-7, est passée sur une colonne contenant la phase chélatante acryl-IDA (acryl-iminodiacétate) chargée en  $\text{Na}^+$ . La phase est lavée avec de l'eau, puis le complexe élué avec  $\text{HClO}_4$  2 N. L'éluat est neutralisé avec NaOH 2 N: le complexe cristallise sous forme de sel de perchlorate. Il est filtré, lavé avec un peu d'eau froide, d'alcool (à éviter avec le complexe meso), et d'acétone (idem). Des concentrations successives permettent d'atteindre un rendement de 80%.

Pour le complexe racémique et optiquement pur: un petit échantillon est recristallisé dans de l'eau pour l'analyse au rayons-X.

### Analyses

Rayons-X: Seul le complexe racémique a pu être résolu sous forme de sel de perchlorate (cf résultats).

En ce qui concerne le complexe optiquement pur obtenu sous cette forme, il semblerait qu'il s'agisse d'un polymère et

qu'il soit, de ce fait, difficile à résoudre.

Spectrophotométrie:  $\lambda_{\max} = 630 \text{ nm}$  ( $\epsilon = 134$ )

Pour le complexe optiquement pur:

Polarimétrie:  $[\alpha]_{589} = + 689$  ( $c = 0,015$ ;  $\text{H}_2\text{O}$ )

$[\theta]_{589} = + 3430$

Spectropolarimétrie:  $\Delta\epsilon_{650} = - 1,00$

$\Delta\epsilon_{510} = + 0,14$

$\Delta\epsilon_{547} = 0$

$\Delta\epsilon_{400} = 0$

### 5.13 SYNTHÈSE DE $(\text{Cu}(+)\text{bpp})_3(\text{SO}_4)_3(\text{ACIDE } (-)\text{DI-O,O'-P-TOLUYL-L-TARTRIQUE})_n$

2 solutions, l'une contenant 0,5 g (2 mmol) de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  dans 10 ml d'eau, l'autre contenant 2,1 g (2 mmol) de  $(+)\text{H}_2\text{bpp}[(-)\text{di-o,o'-p-toluyll-L-tartrate}]_2 \cdot 3/2 \text{H}_2\text{O}$  dans 60 ml EtOH et 10 ml d'eau, sont mélangées à chaud. La solution est évaporée à sec, et le solide repris dans un mélange EtOH (10 ml)/AcOEt (10 ml) à chaud: un solide bleu cristallin est obtenu (0,9 g). 0,3 g de ce produit est recristallisé dans un mélange EtOH (10 ml)/AcOEt (2 ml)/ $\text{H}_2\text{O}$  (2 ml): un solide bleu est obtenu sous forme de poudre. Pour obtenir des cristaux afin d'effectuer une analyse aux rayons-X, cette poudre est recristallisée dans EtOH pur.

L'analyse par rayons-X permet d'assigner la configuration (R,R) à la molécule (+)bpp.

### 5.14 SYNTHÈSE DE LA THREONINE

Exemple type: A 1 ml d'une solution 0,1 N en glycine (0,1 mmol) et pyruvate de sodium (0,1 mmol) sont ajoutés 50 mg (0,1 mmol) de  $[\text{Cu}(+)\text{bpp}](\text{ClO}_4)_2$  et 5 ml de tampon borate 0,4 M du pH désiré. Cette solution est laissée 4 heures à la température de réaction (formation de la base de Schiff), et ensuite 2 ml d'une solution 1 N d'acétaldéhyde (2 mmol) sont

ajoutés, ainsi que de l'eau, de manière à avoir une solution finale de 10 ml (le pH est contrôlé et ajusté avec NaOH 2 M et HCl 2 M).

Pour l'analyse par HPLC des acides aminés, un échantillon de 1 ml du mélange réactionnel (0,01 mmol d'acide aminé) est pipeté, et neutralisé par HCl 0,5 M à différents intervalles de temps, et analysé selon 5.22 de la partie expérimentale.

#### 5.15 SYNTHÈSE DE LA SERINE

Le mode opératoire est identique à celui décrit pour la synthèse de la thréonine; simplement, le formaldéhyde est substitué à l'acétaldéhyde. Lorsque la réaction a lieu dans MeOH, la base employée est une solution de MeONa dans MeOH. Dans ce cas, lors de l'analyse des acides aminés, l'échantillon est tout d'abord dilué avec 5 ml d'eau.

#### 5.16 TRANSAMINATION DU PHÉNYLPYRUVATE EN PHÉNYLALANINE

Exemple type: a 1 ml d'une solution  $2 \cdot 10^{-2}$  M en  $[\text{Cu}(+)\text{bpp}]^{2+}$  (0,02 mmol) est ajouté 1 ml d'une solution  $2 \cdot 10^{-2}$  M en pyridoxamine (0,02 mmol), 3 ml d'une solution  $10^{-1}$  M en phénylpyruvate (0,3 mmol), 2 ml d'un tampon borate 0,5 M du pH désiré, et de l'eau jusqu'à 10 ml (le pH est contrôlé et ajusté avec NaOH 1 M et HCl 1 M); le tout est thermostaté à la température de réaction désirée.

Pour l'analyse par HPLC des acides aminés, le procédé est identique aux synthèses de la thréonine et de la sérine; seulement, dans le cas présent, il a été pipeté un échantillon de 5 ml, afin que la quantité totale potentielle en phénylalanine, soit toujours de 0,01 mmol.

La transamination a parfois été suivie en parallèle par UV entre 450 nm et 250 nm; pour cela, un échantillon de la solution de départ est introduit dans une cuve de 1 mm d'épaisseur, et le spectre UV établi selon des intervalles de temps réguliers.

### 5.17 SYNTHÈSE DU $\alpha$ -(FLUORENYL-9)ÉTHANOL [42]

8,3 g de fluorène (50 mmol) sont dissous dans 100 ml d'éther sec. 31 ml (1,6 M ; 50 mmol) de BuLi dans l'hexane sont ajoutés gouttes à gouttes, le mélange chauffé à reflux 30 minutes, puis refroidi par un bain de glace. 2,8 ml (= 2,18 g ; 50 mmol) d'acétaldéhyde dans 40 ml d'éther sec sont alors ajoutés gouttes à gouttes durant 15 minutes, puis la solution est chauffée à reflux pendant 1 heure. 100 ml d'eau sont ajoutés, et le tout transvasé dans un entonnoir à séparation. Le produit est extrait à l'éther, séché sur MgSO<sub>4</sub> anhydre, concentré, passé sur une colonne (70 x 5 cm) contenant 500 g de gel de silice, et élué avec CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Le fluorène non réagit sort en premier, suivi de quelques impuretés, puis le produit est élué (R<sub>F</sub> = 0,45). Après concentration de l'éluat, 4,25 g (40%) de solide jaune sont obtenus; ils sont recristallisés dans 20 ml de ligroïne à haut point d'ébullition: 3,55 g (34%) de cristaux blancs sont obtenus (F = 101°C).

#### Analyse

<sup>1</sup>H-RMN (200 MHz; CDCl<sub>3</sub>): 0,94 (d, 3H); 1,68 (s, 1H); 4,19 (d, 1H); 4,59 (q, 1H); 7,30-7,83 (m, 8H).

### 5.18 DEDOUBLEMENT DU $\alpha$ -(FLUORENYL-9)ÉTHANOL [42]

A une solution de 8,0 g (38 mmol) de  $\alpha$ -(fluorényl-9)éthanol dans 50 ml de pyridine, est ajouté 8,26 g (38 mmol) de S(-) chlorure de camphanyl. La solution est agitée 3 heures à temp. ambiante. Le mélange réactionnel est versé dans de l'eau glacée, et extrait au CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; la phase organique est lavée avec HCl 2 N (2 x 100 ml), séchée sur MgSO<sub>4</sub> anhydre et évaporée à sec: une huile jaune est obtenue; elle est cristallisée par adjonction d'alcool et chauffage au bain-marie: 12,5 g de cristaux (84%) sont obtenus, ils sont recristallisés plusieurs fois dans l'alcool.

Après 8 recristallisations, le produit est optiquement pur.

Le dédoublement est suivi par HPLC: les cristaux obtenus après chaque recristallisation sont chromatographiés sur une phase de type Pirkle ((R)-dinitro-3,5-benzoylphénylglycine greffé sur du propylamine de gel de silice). Cf 3.8 méthode d'analyse.

#### Analyse du produit optiquement pur

F = 158 °C

$[\alpha]_{589} = + 49$  (c = 0,1; EtOH)

#### 5.19 HYDROLYSE DU S(-)CAMPHANATE DE (+)- $\alpha$ -(FLUORENYL-9)ETHYLE [42]

A une solution de 1,0 g (2,56 mmol) de l'ester S(-)camphanate de (+)- $\alpha$ -(fluorényl-9)éthyle dans 50 ml d'éther sec, est ajouté 1,2 g (30 mmol) de LiAlH<sub>4</sub> par petites portions. Le mélange est agité à temp. ambiante 1 heure. L'hydrolyse est effectuée avec 2 ml d'acétate d'éthyle, puis 2 ml d'eau. La suspension est filtrée, lavée avec CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, séchée sur MgSO<sub>4</sub> anhydre, concentrée, passée sur une colonne (15 x 2 cm) contenant 50 g d'oxyde d'aluminium 507 C, et éluée avec le mélange ligroïne/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2:3). Les fractions contenant le (+)- $\alpha$ -(fluorényl-9)éthanol sont réunies et évaporées à sec. Le résidu est recristallisé dans la ligroïne à haut point d'ébullition: 0,29 g (54%) de fins cristaux blancs sont obtenus.  $[\alpha]_{589} = + 30$  (c = 0,1; CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).

#### 5.20 SYNTHÈSE DU CHLOROFORMATE DE (+)- $\alpha$ -(FLUORENYL-9)ETHYLE (FLEC) [42]

4,2 ml (1,93 M; 8,1 mmol) de phosgène en solution dans le toluène (20%) sont dilués avec 10 ml de toluène sec. Une solution de 0,44 g (2,1 mmol) de (+)- $\alpha$ -(fluorényl-9)éthanol et de 0,3 ml (2,1 mmol) de triéthylamine dans 20 ml de toluène sec est ajoutée gouttes à gouttes à 0 °C. Lorsque l'addition est terminée, l'agitation est maintenue 4 heures; le chlorhydrate de triéthylamine est filtré, puis la solution évapo-

rée à sec, et séchée sous vide poussé: 0,55 g (96%) d'une huile très légèrement jaunâtre est obtenu. Elle est dissous dans 100 ml d'acétone: la solution est ainsi de environ 20 mM.  $[\alpha]_{589} = + 74$  (c = 0,5; acétone).

#### 5.21 SYNTHESES DE DERIVES D'ACIDES AMINES PAR FLEC [42]

0,1 ml de tampon borate (pH 6,85; 1 M) est ajouté à 0,4 ml d'une solution aqueuse des acides aminés (env.  $10^{-3}$  M). A cette solution est ajouté 0,1 ml de la solution de FLEC (env. 20 mM dans l'acétone) et 0,4 ml d'acétone. Après 5 minutes, le mélange réactionnel est extrait avec du pentane (2 x 2 ml); la phase aqueuse est alors prête pour être analysée par HPLC.

#### 5.22 ANALYSE DES ACIDES AMINES PAR HPLC

Un échantillon du mélange réactionnel provenant, soit de la synthèse de la thréonine, soit de la synthèse de la sérine ou encore de la synthèse de la phénylalanine, contenant env. 0,01 mmol d'acides aminés et le standard interne (autre acide aminé), est introduit dans une petite colonne (4 x 1,5 cm) contenant la phase chélatante acryl-IDA (40-80 microns), chargée en  $\text{Na}^+$ . L'éluat (env. 80 ml) est concentré à 10 ml. La dérivation des acides aminés est alors réalisée par FLEC, comme décrit précédemment sous 5.21.

Les dérivés obtenus sont ensuite séparés par HPLC. La colonne utilisée ainsi que le solvant d'éluat varient, suivant l'analyse à effectuer (cf résultats).

Les acides aminés sont dosés par la méthode dite du standard interne; le standard interne est un autre acide aminé que ceux formés ou engagés lors de la réaction, et choisi de manière à être élué près de ces mêmes acides aminés.

### 5.23 SYNTHÈSE D'UNE PHASE DE TYPE PIRKLE [43-47]

5 g de dinitro-3,5-benzoyl-D-phénylglycine dissous dans 100 ml de THF sec, sont ajoutés à 5 g d'aminopropyl-silicate (5 microns). 3,95 g de N-ethoxycarbonyl-2-ethoxy-1,2-dihydroquinoléine (EEDQ) sont ajoutés, et la suspension agitée 14 heures. La phase est filtrée, lavée avec MeOH, acétone et éther: 6 g de phase légèrement brunâtre sont obtenus. Une colonne en acier de 25 cm de long et de 4,6 mm de diamètre est remplie avec cette phase, en présence de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Lorsque la colonne est bien tassée, une solution de 10 g d'acide trifluoroacétique dans 150 ml de dichlorométhane est éluee à travers la colonne, de manière à protonner les fonctions amines restées libres. La colonne est ensuite rincée avec  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , puis à l'hexane.

Cette phase permet entre autre de suivre la résolution du S(-)camphanate de  $\alpha$ -(fluorényl-9)éthyle, en séparant les 2 diastéréoisomères (cf. résultats).

## 6. RESUME

Afin d'obtenir un ligand auxiliaire inducteur chiral, une nouvelle triamine, bis(pyrrolidiny-2)-2,6-pyridine (bpp), a été synthétisée, puis séparée en ses 3 différents isomères: meso, antipodes (R,R) et (S,S).

Son comportement en solution en présence de Cu(II) et d'acides aminés a été étudié, notamment la formation de complexes mixtes, et discuté en comparaison de triamines analogues.

Le complexe de bpp avec Cu(II) a été cristallisé sous différentes formes; ce complexe montre une structure monomère avec bpp-rac, et une structure polymère en forme d'hélice,  $([\text{Cu}(+)\text{bpp}]_3(\text{SO}_4)_3(\text{acide } (-)\text{di-}o,o'\text{-p-toluy-l-tartrique}))_n$ , lorsque le ligand optiquement pur est utilisé. La configuration absolue (R,R) peut être attribuée à l'isomère dextrogyre de bpp.

La formation de la thréonine par la réaction de condensation de l'aldéhyde acétique sur le complexe mixte  $[\text{Cu}(+)\text{bpp}(\text{pyruvylidèneglycinate})]$  a été étudiée en fonction de divers milieux réactionnels. Le rendement chimique de la réaction varie de 75% à 94%, avec les proportions suivantes pour les quatre diastéréoisomères: R-thr.: 43-47%; S-thr.: 31-33%; R-allothr.: 19-23%; S-allothr.: 1-5%. La stéréosélectivité varie ainsi entre 13% et 17% pour la thréonine, et entre 73% et 90% pour l'allothréonine, ce qui correspond à une stéréosélectivité moyenne de 30% sur le carbone de la thréonine en faveur des isomères R. L'influence du ligand bpp induisant la stéréosélectivité est discutée sur la base des constantes thermodynamiques du système Cu(II)-bpp, et de modèles moléculaires. La configuration absolue des produits peut directement être prévue par la configuration absolue de l'inducteur chiral, (+)bpp.

La formation de la sérine par la réaction de condensation du

formaldéhyde sur le complexe mixte [Cu(+)*bpp*(pyruvylidène-glycinate)] a également été étudiée; le rendement chimique s'élève à environ 70%, avec une stéréosélectivité de 30% en faveur le l'isomère R lorsque la réaction a lieu dans un milieu aqueux tamponné. Dans MeOH et en présence de MeONa, le rendement chimique atteint 50% et la stéréosélectivité pratiquement 60%; la réaction peut être rendue catalytique dans ce milieu, néanmoins le produit obtenu dans ce cas montre une activité optique pratiquement nulle.

La formation de la phénylalanine par isomérisation du complexe mixte [Cu(+)*bpp*(phénylpyruvylidènepyridoxamate)] est pratiquement quantitative et montre également une stéréosélectivité de 30% en faveur de l'isomère R. Cette réaction peut être rendue catalytique, avec conservation de la stéréosélectivité. La même réaction d'isomérisation est également étudiée en présence d'un autre ligand auxiliaire chiral: bis(aza-2-phényl-3(R)-butyl)-2,6-pyridine (*bapbp*). Le comportement antagoniste des deux inducteurs chiraux est discuté sur la base des variations observées en absorption UV ainsi qu'en terme de stéréosélectivité.

Une méthode d'analyse a été mise au point: elle permet de déterminer, en environ 1 heure de temps, le pourcentage des différents isomères des acides aminés engagés ou formés lors des réactions sus-mentionnées, d'un mélange réactionnel.

## 7. BIBLIOGRAPHIE

- [1] L. Stryer, *Biochemistry*, 1-13, W.H. Freeman & Co, San Francisco (1975)
- [2] K.D. Kopple, *Peptides et acides aminés*, 151-152, W.A. Benjamin Inc. New York (1967)
- [3] M. Sato, K. Okawa & S. Akabori, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 30, 937 (1957)
- [4] S-B. Teo & M.J. O'Connor, *Inorganica Chimica Acta*, 92, 57 (1984)
- [5] Mitsui Toatsu Chemicals Inc. *Jpn Kokai Tokkyo Koho JP* 59,163,352 [84,163,352] (1984)
- [6] Mitsui Toatsu Chemicals Inc. *Jpn Kokai Tokkyo Koho JP* 59 25,362 [84 25,362] (1984)
- [7] D.A. Buckingham, L.G. Marzilli & A.M. Sorgeson, *J. Am. Chem. Soc.* 89, 5133 (1967)
- [8] J.C. Dabrowiak & D.W. Cooke, *Inorg. Chem.* 14, 1305 (1975)
- [9] S. Ohdan, T. Ichikawa, Y. Araki & Y. Ishido, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 47, 1295 (1974)
- [10] T. Ichikawa, S. Maeda, Y. Araki & Y. Ishido, *J. Am. Chem. Soc.* 92, 5514 (1970)
- [11] S. Suzuki, H. Narita & K. Harada, *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* 29 (1979)
- [12] K. Harada & J-I. Oh-Hashi, *J. Org. Chem.* 32, 1103 (1967)

- [13] C. Sörensen, thèse à l'université de Neuchâtel (1985)
- [14] D.E. Metzler & E.E. Snell, J. Am. Chem. Soc. 74, 979 (1952)
- [15] T. Ichikawa, T. Okamoto, S. Maeda, S. Ohdan, Y. Araki & Y. Ishido, Tetrahedron Letters, 79 (1971)
- [16] Y.N. Belokon, I.E. Zel'tzer, N.M. Loim, V.A. Tsiryapkin Z.N. Parnes, D.N. Kursanov & V.M. Belikov, J. Chem. Soc. Chem. Comm. 789 (1979)
- [17] Y.N. Belokon, I.E. Zel'tzer, N.M. Loim, V.A. Tsiryapkin G.G. Aleksandrov, D.N. Kursanov, Z.N. Parnes, Y.T. Struchkov & V.M. Belikov, Tetrahedron, 36, 1089 (1980)
- [18] Y.N. Belokon, I.E. Zel'tzer, V.I. Bakhmutov, M.B Saporovskaya, M.G. Ryzhov, A.I. Yanovsky, Y.T. Struchkov & V.M. Belikov, J. Am. Chem. Soc. 105, 2010 (1983)
- [19] Y.N. Belokon, A.G. Bulychev, S.V. Vitt, Y.T. Struchkov A.S. Batsanov, T.V. Timofeeva, V.A. Tsiryapkin, M.G. Ryzhov, L.A. Lysova, V.I. Bakhmutov, & V.M. Belikov, J. Am. Chem. Soc. 107, 4252 (1985)
- [20] M. Girth-Weller & W. Beck, Inorganica Chimica Acta, 57 107 (1982)
- [21] L. Casella, A. Pasini, R. Ugo & M. Visca, J. Chem. Soc. Dalton Trans. 1655 (1980)
- [22] R.H. Holm, Inorganic Biochemistry, 2, 1137, G.L. Eichhorn, Elsevier, New York (1973)
- [23] E.E. Snell, J. Am. Chem. Soc. 67, 194 (1945)
- [24] D.E. Metzler, J.B. Longenecker & E.E. Snell, J. Am. Chem. Soc. 76, 639 (1954)

- [25] H. Kuzuhara, T. Komatsu & S. Emoto, *Tetrahedron Letters*, 38, 3563 (1978)
- [26] K. Bernauer, R. Deschenaux & T. Taura, *Helv. Chim. Acta* 66, 2049 (1983)
- [27] R. Deschenaux & K. Bernauer, *Helv. Chim. Acta*, 67, 373 (1984)
- [28] J.P. Shaw, travail de diplôme à l'université de Neuchâtel (1987)
- [29] R. Deschenaux, thèse à l'université de Neuchâtel (1983)
- [30] H. Su, thèse à l'université de Neuchâtel (1986)
- [31] K. Bernauer & F. Gretillat, *Helv. Chim. Acta*, 72, 477 (1989)
- [32] F. Korte & H.J. Shultz-Steinen, *Chem. Ber.* 95, 2444 (1962)
- [33] P. Jacob III, *J. Org. Chem.* 47, 4165 (1982)
- [34] J.A. Dale, D.L. Dull & H.S. Mosher, *J. Org. Chem.* 34, 2543 (1969)
- [35] G. Vuille, thèse à l'université de Neuchâtel (1981)
- [36] G.M. Sheldrick, "SHELXS-86", Program for Crystal Structure Determination, University of Göttingen, German Federal Republic (1986)
- [37] G.M. Sheldrick, "SHELXS-76", Program for Crystal Structure Determination, University of Cambridge, England (1976)
- [38] *International Tables for X-ray Crystallography*, IV, Kynoch Press, Birmingham, England (1974)

- [39] W.D.S. Motherwell, W. Clegg, "PLUTO, Program for Plotting Molecular and Crystal Structures", University of Cambridge, England, 1978.
- [40] K. Bernauer, H. Su & F. Gretillat, publication en préparation
- [41] D.E. Metzler, J. Am. Chem. Soc. 79, 485 (1957)
- [42] S. Einarsson, B. Josefsson, P. Möller & D. Sanchez, Anal. Chem. 59, 1191 (1987)
- [43] W.H. Pirkle, D.W. House & J.M. Finn, J. Chromatogr. 192 143 (1980)
- [44] W.H. Pirkle, C.J. Welch & M.H. Hyun, J. Org. Chem. 48 5022 (1983)
- [45] W.H. Pirkle & C.J. Welch, J. Org. Chem. 49, 138 (1984)
- [46] W.H. Pirkle, C.J. Welch & G.S. Mahler, J. Org. Chem. 49 2504 (1984)
- [47] W.H. Pirkle, A. Tsipouras & T.J. Sowin, J. Chromatogr. 319, 392 (1985)
- [48] S. Einarsson, B. Josefsson & S. Lagerkvist, J. Chromatogr. 282, 609 (1983)
- [49] P.G. Haines, A. Eisner & C.F. Woodward, J. Am. Chem. Soc. 67, 1258 (1945)
- [50] A. Castonguay & H. Van Vunakis, J. Org. Chem. 44, 4332 (1979)
- [51] J.I. Seeman, H.V. Secor, C.G. Charles, E.B. Sanders, R.L. Bassfield & J.F. Whidby, J. Org. Chem. 46, 3040 (1981)

- [52] G.F. Alberici, J. Andrieux, G. Adam & M.M. Plat,  
Tetrahedron Letters, 24, 1937 (1983)
- [53] J. Chandrasekharon, P.V. Ramachandron & H.C. Brown,  
J. Org. Chem. 50, 5446 (1985)
- [54] R.M. Smith, A.E. Martel, Critical Stability Constants,  
2, Plenum Press, New York (1975)
- [55] M. Ferigo, thèse à l'université de Neuchâtel (1988)
- [56] J.M. Lehn, A. Rigault, J. Siegel, J. Harrowfield,  
B. Chevrier & D. Moras, Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 84,  
2565 (1987)
- [57] J.P. Aune & P. Maldonado, J. Chem. Soc. Chem. Comm.  
1351 (1970)
- [58] D.A. Phipps, Inorganica Chimica Acta, 27, L-103 (1978)