

50376
1992
27

61179

50376
1992
27

numéro d'ordre : 846

THESE

présentée à

L'UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE FLANDRES ARTOIS

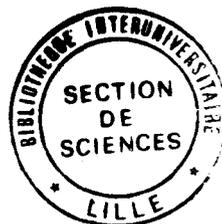
pour obtenir le titre de

DOCTEUR EN CHIMIE

Spécialité : CHIMIE ORGANIQUE ET MACROMOLECULAIRE

par

Sylvie CAPELLE



AUTOXYDATION DE L'ACIDE GENTISIQUE

PROPRIETES ANTIOXYDANTES

soutenue le 17 janvier 1992

Président : M. A. LABLACHE-COMBIER
Rapporteurs : M. B. ANCIAN
M. M. WARTEL
Examineurs : M. M. IMBENOTTE
M. J.P. CATTEAU

*A la mémoire
de mes grands - parents,
de Jean - Pierre,*



*A ma famille,
A mon petit frère,*

A tous mes amis belges et étrangers.

Cette étude a été réalisée au laboratoire de Chimie Organique Physique de l'Université des Sciences et Techniques de Lille Flandres Artois, dirigé par Monsieur le Professeur A. Lablache - Combier, Directeur de l'Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Lille, à qui j'exprime ma profonde reconnaissance pour m'avoir accueillie dans son laboratoire et pour avoir accepté de présider ce jury.

Je tiens à exprimer ma très sincère gratitude à Monsieur le Professeur J.P. Cateau tant pour m'avoir fait bénéficier de sa compétence en RPE que pour les nombreux conseils et encouragements précieux qu'il m'a prodigués durant ce travail.

Je remercie également:

Monsieur le Docteur M. Imbenotte,

Monsieur le Professeur M. Wartel,

Monsieur le Professeur B. Ancian,

qui ont bien voulu juger ce travail.

Qu'ils veuillent bien accepter mes plus respectueux remerciements.

Je tiens à associer à cette étude Monsieur le Docteur P. Cotelle. Qu'il trouve ici l'expression de mes remerciements pour sa collaboration amicale et fructueuse.

Monsieur le Docteur S. Pellegrini a su m'initier à l'électrochimie organique et la voltammétrie cyclique. Qu'il soit ici vivement remercié tant pour sa disponibilité que pour sa patience à mon égard.

Mes remerciements vont aussi à tous mes camarades de laboratoire. Qu'ils trouvent ici mention du plaisir que j'ai eu à travailler à leurs côtés.

Je remercie également Mademoiselle R. Galante pour la dactylographie de ce travail et Madame Sainléger pour la réalisation matérielle de cet ouvrage.

INTRODUCTION

L'oxydation non métabolique des protéines, de l'ADN, des acides gras insaturés contribue de façon importante au développement de nombreuses maladies et de phénomènes toxiques (1,2). On a proposé généralement deux mécanismes d'oxydation de ces macromolécules biologiques.

Le mécanisme le plus fréquemment invoqué postule l'intervention de radicaux libres oxygénés, en particulier le radical $^{\circ}\text{OH}$ qui initierait l'oxydation des lipides, des protéines et de l'ADN (réaction 1-fig. 1 page 11). Cette initiation serait suivie par des réactions de propagation (réactions 2 et 3-fig. 1) faisant appel à de nombreux chemins réactionnels (3).

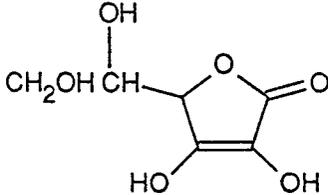
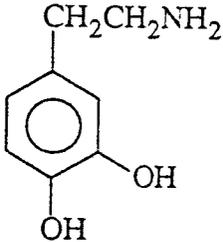
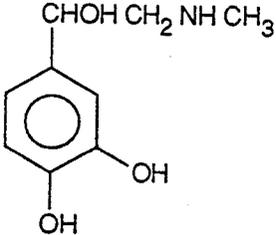
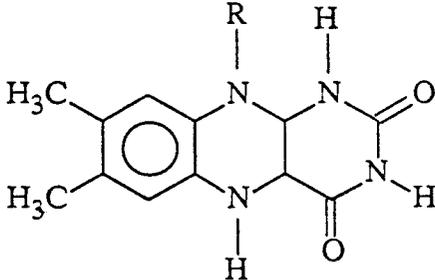
La réaction 1 suppose la présence de radicaux hydroxyles qui proviennent de la réduction à un électron du dioxygène conduisant aux formes partiellement réduites $\text{O}_2^{\circ-}$, HO_2° , H_2O_2 ; H_2O_2 conduit finalement à $^{\circ}\text{OH}$.

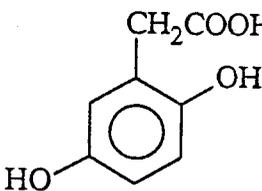
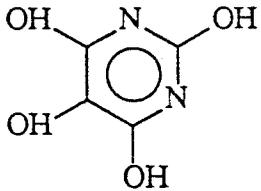
Le second mécanisme invoque la production et l'addition d'oxygène singulet qui attaquerait directement les molécules biologiques, par exemple au niveau d'une double liaison éthylénique (réaction 4-fig. 1). Ce mécanisme nécessite un apport d'énergie, tel que la lumière, afin de transformer le dioxygène en oxygène singulet. Etant donné l'état triplet fondamental du dioxygène, sa réaction avec l'ADN, les protéines ou encore les lipides, sera très lente (moins de $10^{-5} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$).

Quel que soit le mécanisme invoqué, l'attaque des macromolécules biologiques par le dioxygène va nécessiter une "activation" de ce dernier soit par passage de l'état triplet à l'état singulet, soit par réduction en ion superoxyde $\text{O}_2^{\circ-}$. Cette dernière réaction pourra se faire par l'intermédiaire d'un certain nombre de petites "biomolécules" pour lesquelles on a pu montrer qu'elles réagissaient directement avec le dioxygène pour produire $\text{O}_2^{\circ-}$ ou H_2O_2 selon les réactions 5 et 6 de la figure 1.

Ce type de réaction s'appellera "autoxydation" et répondra à la définition suivante : "Oxydation, apparemment non catalysée, d'une substance exposée à l'oxygène de l'air" (3).

Des exemples de ces biomolécules sont reportés dans le tableau 1.

NOM	STRUCTURE	REFERENCES
ACIDE ASCORBIQUE		4,5
CYSTEINE	$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \text{ CH COOH} \\ \\ \text{CH}_2 \text{ SH} \end{array}$	6
DOPAMINE		7,8
EPINEPHRINE		9
FLAVINES		10

NOM	STRUCTURE	REFERENCES
GLUTATHION	$\text{H}_2\text{N}-\underset{\text{COOH}}{\text{CH}}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{NH}-\underset{\text{CH}_2\text{SH}}{\text{CH}}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{COOH}$	11
ACIDE HOMOGENTISIQUE		12
CYSTEAMINE	$\text{HS}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_2$	13
ACIDE DIALURIQUE		14
ACIDE DIHYDROXY FUMARIQUE	$\text{HOOC}-\overset{\text{OH}}{\text{C}}=\overset{\text{OH}}{\text{C}}-\text{COOH}$	15,16
DITHIOTHREITOL	$\text{HS}-\text{CH}_2-\overset{\text{OH}}{\text{CH}}-\underset{\text{OH}}{\text{CH}}-\text{CH}_2-\text{SH}$	17

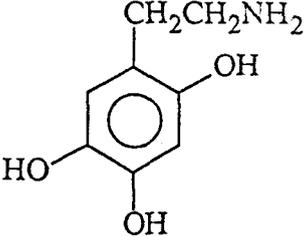
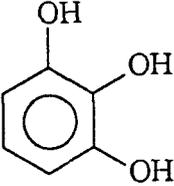
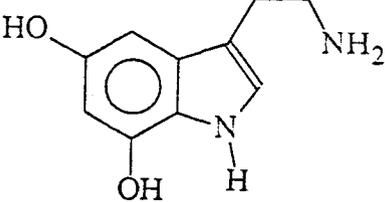
NOM	STRUCTURE	REFERENCES
6-HYDROXYDOPAMINE		14
PYROGALLOL		18
5,7-DIHYDROXY TRYPTAMINE		25,26

Tableau 1

Les produits d'oxydation de ces "biomolécules" ont généralement été identifiés mais on s'est peu intéressé à l'évolution de ces produits d'autoxydation. On peut envisager deux effets contraires de ces produits par rapport à leur comportement biologique :

- ils peuvent avoir des effets cytotoxiques et être à l'origine de pathologies diverses,
- ils peuvent au contraire jouer un rôle d'antioxydant et protéger ainsi la cellule en piégeant ultérieurement les radicaux °OH.

Envisageons quelques exemples ayant trait à ces deux processus en remarquant qu'un bon nombre des exemples de "biomolécules" citées dans le tableau 1 correspondent à des structures hydroquinoniques. Nous nous intéresserons plus particulièrement à ce type de molécules.

Effets cytotoxiques des produits d'autoxydation

Nous choisirons deux exemples dans le tableau 1 :

- l'acide homogentisique, qui possède une structure d'hydroquinone, joue un rôle important dans une maladie métabolique : l'Alcaptonurie. Cette maladie résulte d'un défaut en acide homogentisique oxydase (20) et se caractérise par des concentrations élevées en acide homogentisique dans le sérum sanguin, conduisant à une destruction des cartilages et à une arthrite inflammatoire. J.P. Martin et al. (21) ont pu montrer que l'autoxydation de l'acide homogentisique produisait finalement des radicaux °OH qui dégradent l'acide hyaluronique, principal constituant visqueux du liquide synovial.

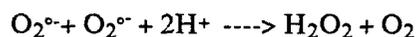
De plus, l'étude de l'autoxydation de l'acide homogentisique nous apprend que :

*cet acide est rapidement oxydé en acide benzoquinonacétique en milieu alcalin et en présence d'oxygène moléculaire (22),

*la réaction d'autoxydation dépend : -de la température,

-du pH ; l'autoxydation étant facilitée à pH élevé.

Les auteurs ont aussi proposé un mécanisme :



Le peroxyde d'hydrogène ainsi formé va réagir avec un réducteur (tel $\text{O}_2^{\circ-}$ ou l'acide benzoquinonacétique) pour former le radical °OH qui produira les effets cytotoxiques.

-la 5,7-dihydroxytryptamine possède une structure de 1,3-diphénol et produit des effets neurodégénératifs (23) qui ont été attribués aux produits d'autoxydation. La quinone 6 (tableau 2) a été isolée comme produit d'autoxydation (24) et Borchardt et al (25,30) ont pu montrer à l'aide de marquage à l'oxygène 18 qu'elle se formait par un mécanisme correspondant au schéma 1 du tableau 2. C'est finalement cette quinone 6 qui serait responsable des effets neurodégénératifs.

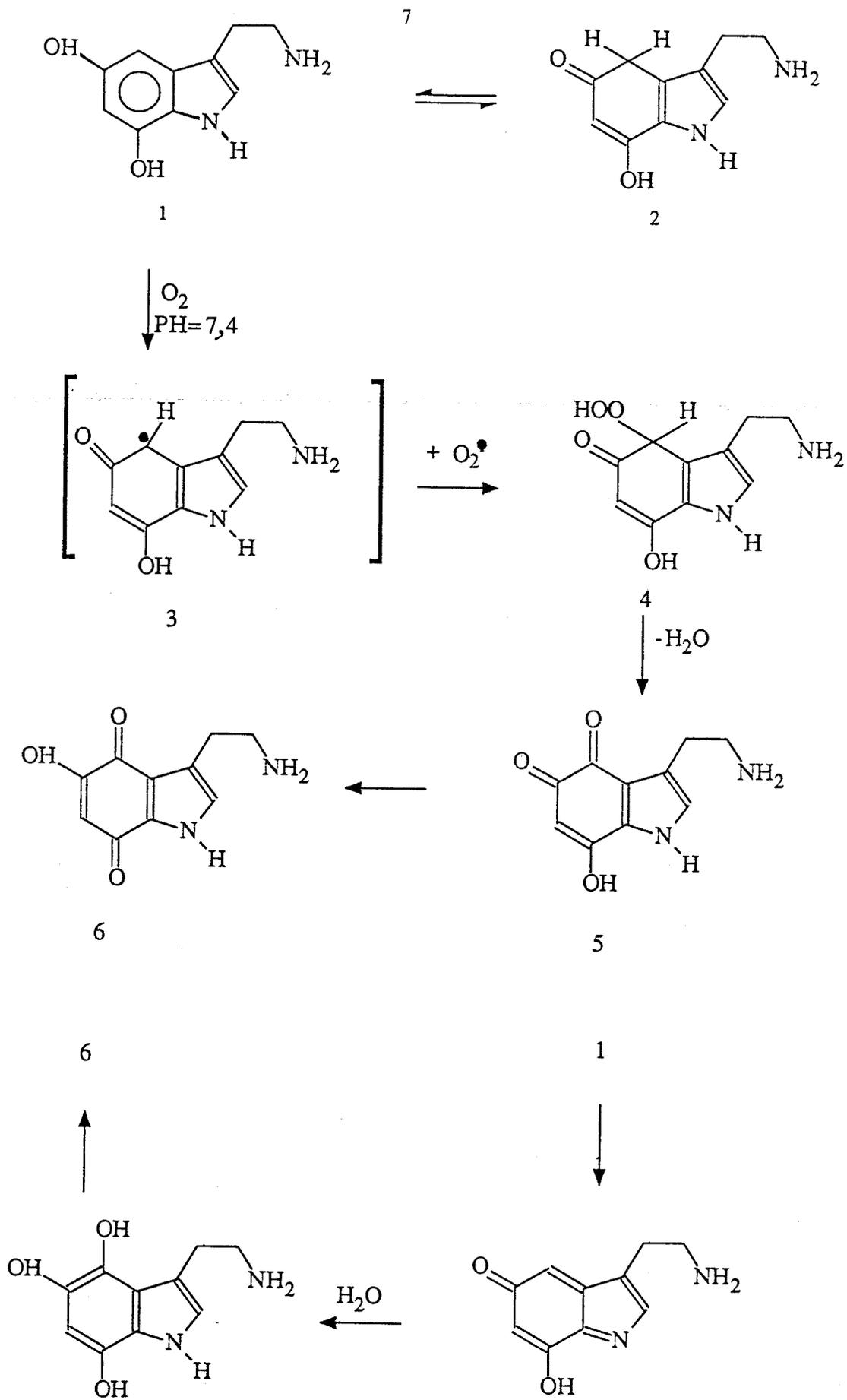


Tableau 2

Pouvoir antioxydant des produits d'autoxydation

Dans le cas des exemples cités ci-dessus, les produits d'autoxydation qui ont été caractérisés sont des quinones : acide benzoquinonacétique à partir de l'acide homogentisique, quinone 6 (tableau 2) pour la 5,7- dihydroxytryptamine. Or, il a été observé que la réaction de l'ion superoxyde avec la *para*-benzohydroquinone conduit au même radical semi-quinonique que la réaction de ce même ion avec la *para*-benzoquinone. Autrement dit, O_2° pourra agir comme un agent oxydant ou réducteur en fonction du substrat qu'il rencontrera (27).

On conçoit dès lors que dans certaines conditions, l'ion superoxyde sera inhibé par la présence de quinones qui seront des produits d'autoxydation. On pourra alors considérer que ces produits d'autoxydation joueront un rôle d'antioxydant.

L'inhibition de O_2° se traduira par une inhibition de la réaction d'Haber-Weiss (réaction 7) génératrice des radicaux $^{\circ}OH$. Ce mode d'action sera une des stratégies thérapeutiques antioxydantes.

Une autre stratégie que l'on pourra mettre en oeuvre consistera à piéger les radicaux $^{\circ}OH$ dès leur formation avant qu'ils ne puissent attaquer les macromolécules biologiques.

Cet effet a été particulièrement mis en évidence dans le cas des dérivés de l'acide benzoïque. Pour l'ion salicylate, on a pu montrer (28) que sa réaction avec les radicaux hydroxyles conduisait au 2,3-dihydroxybenzoate, au 2,5-dihydroxybenzoate et au catéchol dans les proportions 5/4/1. La détection de 2,3-dihydroxybenzoate dans les urines humaines a permis de penser que l'ion salicylate agissait comme un piègeur de radicaux $^{\circ}OH$ puisque le 2,3-dihydroxybenzoate n'est pas connu comme métabolite de l'aspirine.

D'autres essais ont été tentés sur des esters de l'acide gallique et des acides *méta* et *para*-hydroxybenzoïques pour lesquels on a tenté de relier le pouvoir capteur de radicaux $^{\circ}OH$ à l'activité antipsoriatique (29). Certains auteurs ont même proposé l'utilisation de l'ion salicylate comme sonde pour la détection des radicaux hydroxyles lors de l'étude du "stress oxydatif" (30).

Voici un schéma résumant la situation :

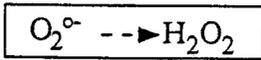
AUTOXYDATIONS

Activations excessives
des phagocytes

Hyper oxygénation

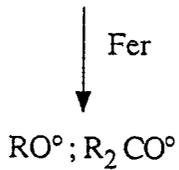
Recyclage "rédox"
(médicaments)

Radiations ionisantes
Ultra sons
Photolyse



DOMMAGES

ADN
Lipides
Protéines
Enzymes
Sucres



ALDEHYDES CYTOTOXIQUES
HYDROCARBURES

POLYMERES INSOLUBLES

*amplification
des
dommages*



Tous ces travaux montrent le grand intérêt que l'on porte actuellement aux réactions d'autoxydation et au pouvoir antioxydant des dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque. Paradoxalement, parmi ces dérivés, l'acide gentisique (acide 2,5-dihydroxybenzoïque) n'a pas été étudié bien qu'il constitue l'un des métabolites de l'aspirine et de l'acide homogentisique (tableau 3).

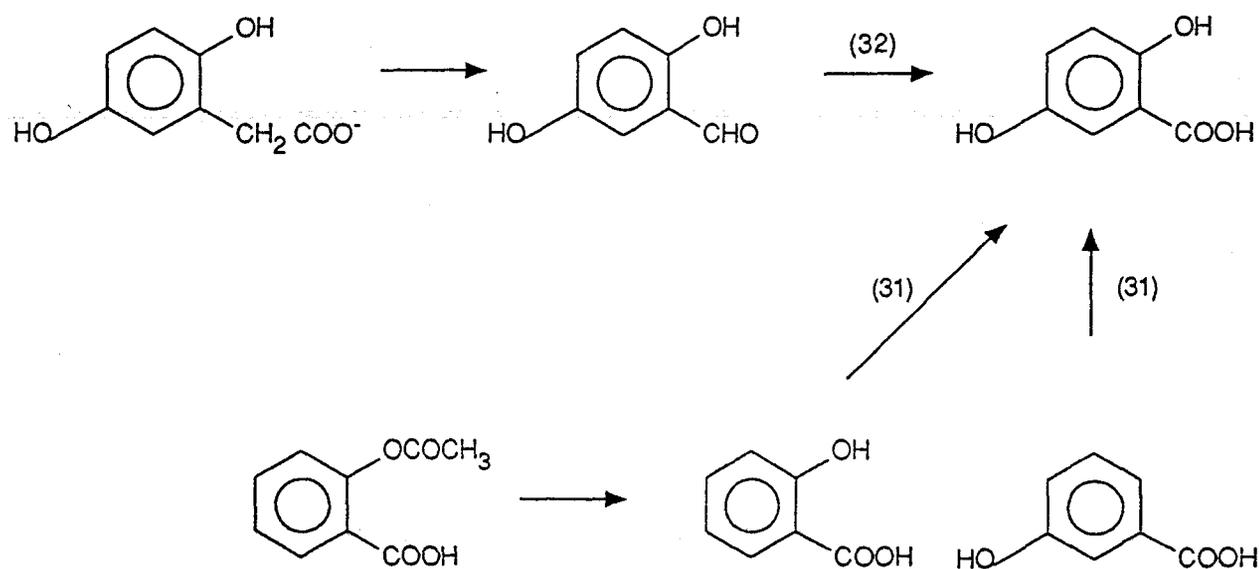


Tableau 3

Nous nous sommes donc intéressés dans ce travail à l'étude de la réaction d'autoxydation de l'acide gentisique en nous fixant une double motivation :

- par une étude potentiométrique et l'utilisation conjointe de la résonance paramagnétique électronique, tenter de caractériser les produits d'autoxydation formés,
- tester le pouvoir antioxydant de l'acide gentisique et de ses produits d'autoxydation vis-à-vis de l'inhibition du radical hydroxyle (33).

Parallèlement, en collaboration avec l'équipe de M. Imbenotte, nous avons entrepris une étude mécanistique de la synthèse d'un modèle d'acide humique à partir de l'acide gentisique (34). Les résultats obtenus dans l'étude de l'autoxydation de cet acide pourront s'appliquer à ce problème.



Figure 1

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES :

Introduction

- 1 **Halliwell B. and Gutteridge J.M.C.**
Free Radicals in Biology and Medicine
London : Clarendon Press 1985

- 2 **Horton A.A. and Fairhurst S.**
C.R.C. Crit. Rev. Toxicol., 1987, 18, 27

- 3 **Uri N.**
Autoxidation and Antioxidants
Vol I. New York Interscience 1961

- 4 **Scarpa M., Stevanato R., Viglino P. and Rigo A.**
J. Biol. Chem., 1983, 258, 6695

- 5 **Boyer R. and Mc Clearly C.J.**
Free Radical Biol. Med., 1987, 3, 389

- 6 **Saez G., Thornalley P.J., Hill H.A.O., Hemes R. and Bannister J.V.**
Biochim. Biophys. Acta, 1982, 719, 24

- 7 **Pileblad E., Slivka A., Bratvold D. and Cohen G.**
Arch. Biochem. Biophys., 1988, 263, 447

- 8 **Graham D.G., Tiffany S.M., Bell W.R.Jr and Gutknecht W.F.**
Mol. Pharmacol., 1978, 14, 644

- 9 **Misra H.P. and Fridovich I.**
J. Biol. Chem., 1972, 247, 3170

- 10 **Massey V., Strickland S., Mayhew S.G., Howell L.G., Engel P.C., Mathews R.G., Shuman M. and Sullivan P.A.**
Biochem. Biophys. Res. Commun., 1969, 36, 891

- 11 **Albro P.W., Corbette J.T. and Schroeder J.L.**
J. Inorg. Chem., 1986, 27, 191
- 12 **Martin J.P.Jr and Batkoff B.**
Free Radical Biol. Med., 1987, 3, 241
- 13 **Takagi Y., Shikita M., Terasima T. and Akaboshi S.**
Radiat. Res., 1974, 60, 292
- 14 **Cohen G. and Heikkila R.E.**
J. Biol. Chem., 1974, 249, 2447
- 15 **Fisher L.J. and Hamburger S.A.**
Endocrinology, 1981, 108, 2331
- 16 **Autor A.P., Mc Lennan G. and Fox A.**
Molecular Basis of Environmental Toxicity
Ann Arbor, M.I. : Ann Arbor Science 1980
- 17 **Misra H.P.**
J. Biol. Chem., 1974, 249, 2151
- 18 **Marklund S. and Marklund G.**
Eur. J. Biochem., 1972, 47, 3170
- 19 **Aust S.D., Morehouse L.A. and Thomas C.E.**
J. Free Radical Biol. Med., 1985, 1, 3
- 20 **La Du B.N., Zaroni V.G., Laster I. and Seegmiller J.E.**
J. Biol. Chem., 1958, 230, 251
- 21 **Martin J.P. and Batkoff B.**
Free Radical Biol. Med., 1987, 3, 241
- 22 **Shallert T. and Wilcox R.E.**
Neuro Methods
Boulton, Baker editors
Humana Press : Clifton 1985, Vol I, 343

- 23 **Milch R.A., Titus E.D. and Loo T.L.**
Science, 1957, 126, 209
- 24 **Wrona M.Z., Lemordant D., Lin L., Blank C.L. and Dryhurst G.**
J. Med. Chem., 1986, 29, 499
- 25 **Sinhababu A.K. and Borchardt R.T.**
J. Am. Chem. Soc., 1985, 107, 7618
- 26 **Sinhababu A.K. and Borchardt R.T.**
J. Am. Chem. Soc., 1989, 111, 2230
- 27 **Ozawa T. and Hanaki A.**
Chem. Pharm. Bull., 1983, 31, 2535
- 28 **Grootveld M. and Halliwell B.**
Biochem. J., 1986, 237, 499
- 29 **Haselhoff R.F., Blasig I.E., Meffert H. and Ebert B.**
Free Radical Biol. Med., 1990, 9, 111
- 30 **Powell S.R. and Hall D.**
Free Radical Biol. Med., 1990, 9, 133
- 31 **Moorhouse L.A., Halliwell B., Grootveld M. and Gutteridge J.M.C.**
Biochem. Biophys. Acta, 1985, 843, 261
- 32 **Kanda M., Watanabe H. and Sakamoto Y.**
J. Biochem., 1965, 56, 351
- 33 **Capelle S., Planckaert B., Cotellet P. et Catteau J.P.**
J. Chim. Phys., sous presse
- 34 **Ebenga J.P., Imbenotte M., Pommery J., Catteau J.P. and Erb F.**
Water Research, 1986, 20, 1383

PREMIERE PARTIE

OXYDO-REDUCTION DE L'ACIDE GENTISIQUE

Il s'est très rapidement avéré que l'autoxydation de l'acide gentisique était une réaction très complexe. Nous avons donc choisi d'étudier d'abord l'oxydo-réduction de cet acide afin de pouvoir caractériser, dans les conditions les plus sélectives possibles, les différentes espèces radicalaires formées.

I- LA VOLTAMMETRIE CYCLIQUE

A- Principe de la méthode (1)

Un système d'oxydo-réduction peut être étudié de façon détaillée en enregistrant un ensemble de courbes intensité - temps pour différents potentiels appliqués.

La présence de différentes espèces en solution à partir du tracé de ces courbes n'est pas facile à discerner et pour obtenir une courbe intensité - potentiel bien définie, il est nécessaire d'enregistrer un ensemble de courbes à des potentiels très rapprochés (1 mV de différence, par exemple). En pratique, plus d'informations peuvent être obtenues à partir d'une seule expérience; ceci en appliquant à l'électrode un balayage de potentiel variant avec le temps et en enregistrant directement la courbe intensité - potentiel correspondante. Le mode de balayage généralement utilisé correspond à une variation linéaire de potentiel avec le temps. Les vitesses de balayage sont habituellement comprises entre 0,04 V/s et 1000 V/s. Le courant est donc enregistré en fonction du potentiel. La méthode s'appelle **voltammétrie à balayage linéaire**. Les courbes obtenues ont la forme de la figure 2.

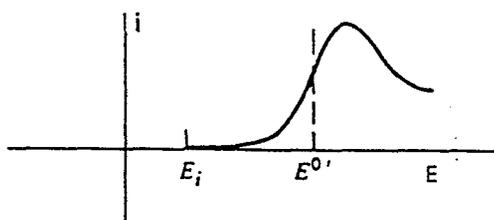


Figure 2

Considérons la réaction : $A \rightarrow A^+ + 1 e^-$

Si le potentiel initial choisi (E_i) est inférieur à E_0 , le courant venant de l'oxydation du composé est négligeable en début de balayage et seul le courant résiduel est observé. Lorsque le potentiel augmente, la vitesse d'oxydation de A augmente ainsi que le courant anodique. Quand la vitesse de disparition de A devient trop importante, sa concentration à l'électrode s'annule ; seul le courant de diffusion intervient. Le courant anodique diminue avec le temps c'est-à-dire avec le potentiel puisque E varie linéairement avec le temps. Quand le sens du balayage du potentiel est inversé, la concentration en espèce réductible A^+ est importante près de l'électrode.

La réduction de A^+ en A se fait lorsque le potentiel diminue. Un courant cathodique est alors observé et la courbe intensité - potentiel retour à la même allure que celle de la courbe aller. L'ensemble de cette expérience avec inversion du sens du balayage de potentiel est appelé **voltammétrie cyclique**.

En électrochimie, la voltammétrie cyclique est une technique souvent utilisée pour l'étude préliminaire de nouveaux systèmes électrochimiques et elle est particulièrement utile dans le cas des réactions complexes.

Le voltammogramme est caractérisé d'une part par le rapport des intensités des courants de pic i_{pa} / i_{pc} et d'autre part par l'écart des potentiels de pic : $E_{pa} - E_{pc}$.

La valeur i_{pa} correspond au maximum du pic d'oxydation et i_{pc} est mesuré comme indiqué sur la figure 3.

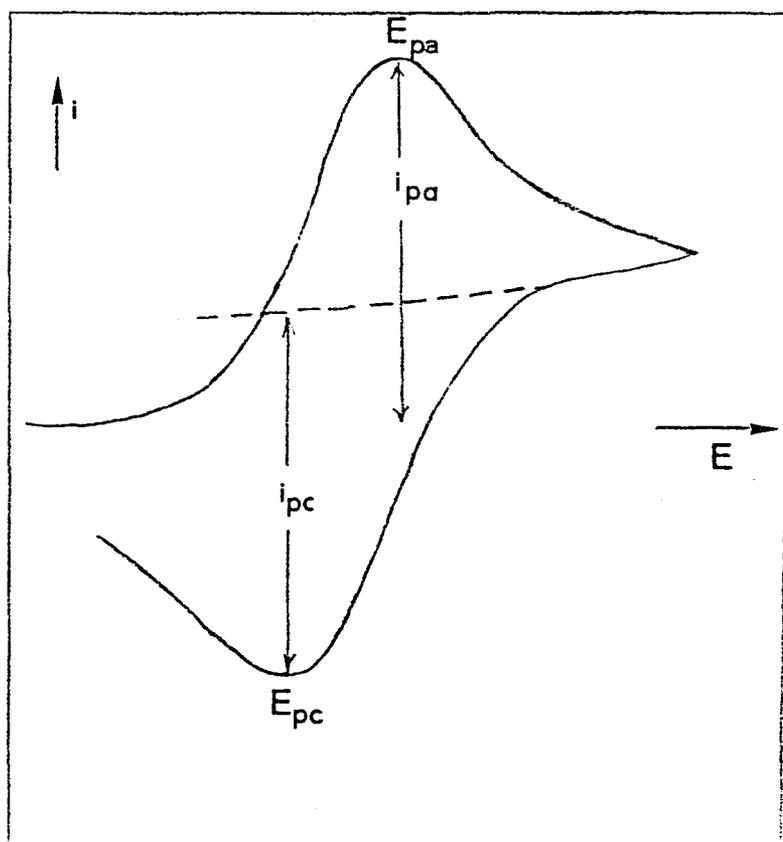


Figure 3

Pour un système réversible où le produit formé à l'électrode est stable, le rapport i_{pa} / i_{pc} est égal à l'unité et ceci quelles que soient la vitesse de balayage de potentiel et les valeurs des coefficients de diffusion.

Quand le rapport i_{pa} / i_{pc} est différent de l'unité, la réaction chimique est couplée au transfert de charge ou des phénomènes plus complexes se produisent à l'électrode.

Pour reconnaître un système réversible, la différence de potentiel $\Delta E_p = E_{pa} - E_{pc}$ peut être utile. Ainsi, si la valeur ΔE_p est proche de $2,3.R.T/n$ (où n est le nombre d'électrons échangés lors de l'oxydo-

réduction) ou de 59 mV à 25°C, le système est réversible. Le transfert d'électron(s) est parfois accompagné d'une réaction chimique homogène qui met en jeu les espèces oxydantes et réductrices.

Selon le type de réactions chimiques homogènes couplées, l'allure des courbes obtenues en électrochimie change.

Il existe différents schémas de réaction possibles dans lesquels des réactions homogènes sont associées aux étapes hétérogènes de transfert d'électron(s). E représente un transfert d'électron(s) à la surface de l'électrode. C est une réaction chimique homogène (2). Dans la suite, les substances désignées par X, Y ou Z sont supposées être non électroactives dans le domaine de potentiel auquel on s'intéresse.

Citons par exemple :

- le mécanisme C - E : réaction antécédente



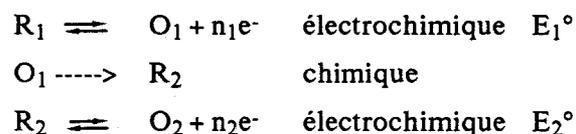
L'espèce électroactive R est générée par une réaction chimique qui précède le transfert d'électron(s) à l'électrode.

- le mécanisme E-C : réaction consécutive



Le produit formé lors de la réaction à l'électrode, O, réagit pour donner une espèce non électroactive au potentiel où l'oxydation de R se produit.

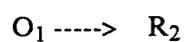
- le mécanisme E-C-E



Un second transfert d'électron(s) a lieu lorsque le produit formé R₂ est électroactif dans la zone de potentiel où a lieu la première réaction électrochimique. Il existe d'autres schémas réactionnels (par exemple, lorsque le produit formé à l'électrode réagit avec le réactif de départ). La présence d'une

réaction chimique couplée peut provoquer une modification du courant de pic et une modification des potentiels caractéristiques de la réaction.

Prenons le cas :



1) figure 4 :

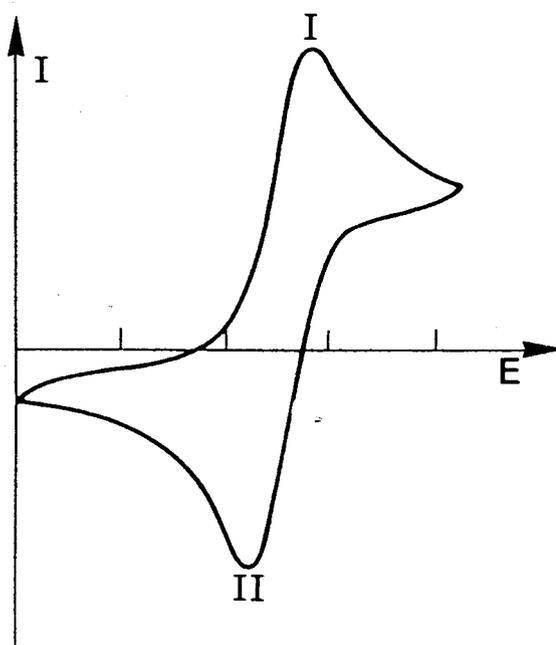


Figure 4

Si la réaction $O_1 \text{-----} \rightarrow R_1$ n'existe pas, nous sommes dans le cas d'une simple oxydation et d'une simple réduction. Le système est réversible (pics I et II).

2) figure 5 :

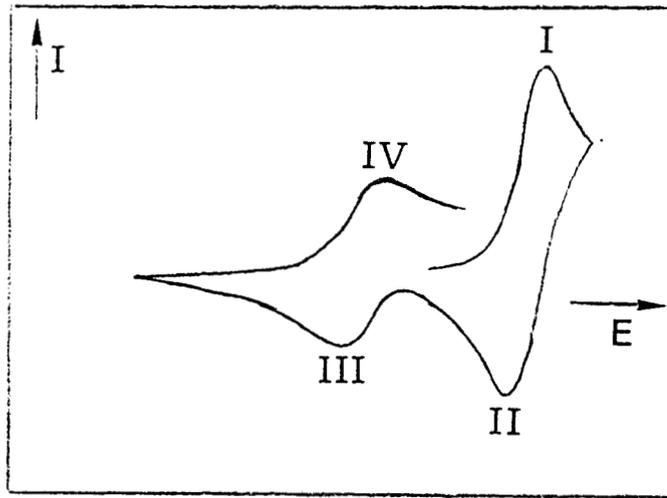


Figure 5

Si la réaction $O_1 \rightarrow R_1$ existe et se produit dans l'intervalle de temps que dure le balayage, le réducteur R_1 s'oxyde et comme la réaction chimique a lieu, le courant i_{pa} augmente car R_2 formé à l'électrode s'oxyde (l'intensité du pic I grandit). Au balayage retour, une partie de R_1 ayant été consommé lors de la réaction chimique, le pic II est plus petit que dans le cas précédent. De plus, le O_2 , formé après l'oxydation de l'espèce R_2 venant de la réaction chimique, peut se réduire et donne ainsi le pic III. Quand on revient en balayage anodique, l'espèce R_2 s'oxyde et le pic IV est ainsi formé.

3) figure 6 :

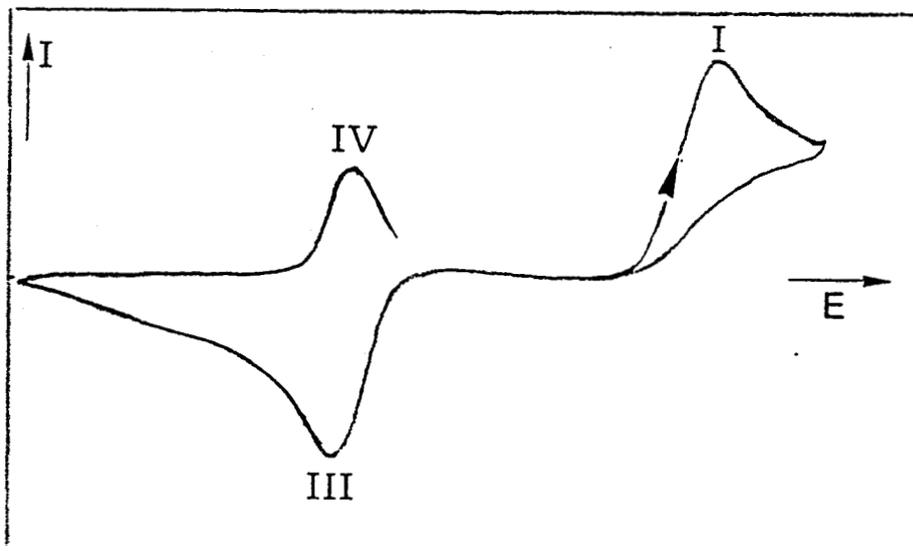


Figure 6

Dans le cas où la réaction chimique est très rapide, l'espèce O_1 est transformée en R_2 dès sa formation à l'électrode. Le courant devient donc très important.

Lors du balayage retour, le signal II a disparu puisque tout O_1 a été consommé.

Les signaux III et IV s'intensifient.

B- DETERMINATION DES POTENTIELS D'OXYDATION DE L'ACIDE GENTISIQUE EN FONCTION DU pH

1- Valeurs des pK_a de l'acide gentisique

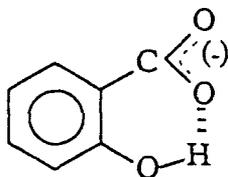
Le comportement de l'acide gentisique est, en partie, influencé par les valeurs de ses pK_a . Lajunen et ses collaborateurs (3) ont déterminé celles-ci en milieu perchlorate de sodium par potentiométrie, sans pour autant préciser à quel proton correspondait chaque pK_a .

Nous avons complété ce travail en considérant les constantes d'acidité de différents composés :

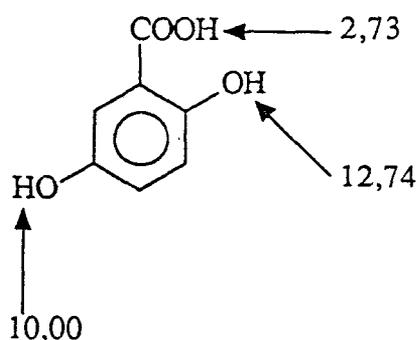
	pK_{a1}	pK_{a2}	pK_{a3}	
acide benzoïque	4,20	-----	-----	a
acide salicylique	2,97	13,40	-----	b
acide <i>m</i> -hydroxy benzoïque	4,06	9,92	-----	c
acide <i>p</i> -hydroxy benzoïque	4,48	9,32	-----	
acide gentisique (acide 2,5-dihydroxy benzoïque)	2,73	10,00	12,74	

Tableau 4

La valeur du pK_a de l'acide benzoïque nous indique que le pK_{a1} de l'acide gentisique correspond à la fonction acide carboxylique. La comparaison entre b et c nous montre qu'une fonction acide carboxylique en ortho d'un groupement hydroxyle rend l'arrachement du proton de ce dernier plus difficile. En effet, une liaison hydrogène est formée entre le OH et le COO^- ce qui correspond à une stabilisation de la molécule sous cette forme (4) :



C'est pourquoi la valeur 12,74 peut être attribuée au groupement hydroxyle positionné en ortho de la fonction acide carboxylique. Cette hypothèse est confirmée par les valeurs proches des pK_{a2} de l'acide *mé*ta-hydroxybenzoïque et de l'acide gentisique. En résumé :



2- Variation des potentiels d'oxydo-réduction en fonction du pH

Comme il existe différentes formes acido-basiques pour le réducteur, nous nous attendons à ce que le potentiel d'oxydo-réduction dépende du pH comme dans le cas du couple quinone/hydroquinone. Pour étudier cette dépendance, nous avons relevé les valeurs de potentiel de pic d'oxydation de l'acide gentisique en fonction du pH. Nous avons ainsi observé une diminution du potentiel d'oxydation (E_{pa}) lors de l'augmentation du pH ; mais cette variation n'est pas linéaire quelque soit le domaine du pH considéré contrairement au système quinone/hydroquinone. Rappelons que ce dernier est un système réversible et qu'il n'y a aucune réaction chimique couplée au transfert électronique. Comme nous allons le voir, de telles réactions se produisent dans notre cas. De plus, le

type et la vitesse de ces dernières dépendent fortement du pH. Bien évidemment, les réactions chimiques couplées modifient les potentiels d'oxydation.

pH	E_{pa}
1,0	0,61 V
1,6	0,53 V
3,0	0,50 V
3,9	0,50 V
4,8	0,50 V
5,5	0,49 V
6,4	0,30 V
7,1	0,28 V
9,5	0,22 V
9,7	0,20 V
10,4	0,19 V
12,0	-0,04 V
13,0	-0,07 V
13,7	-0,18 V

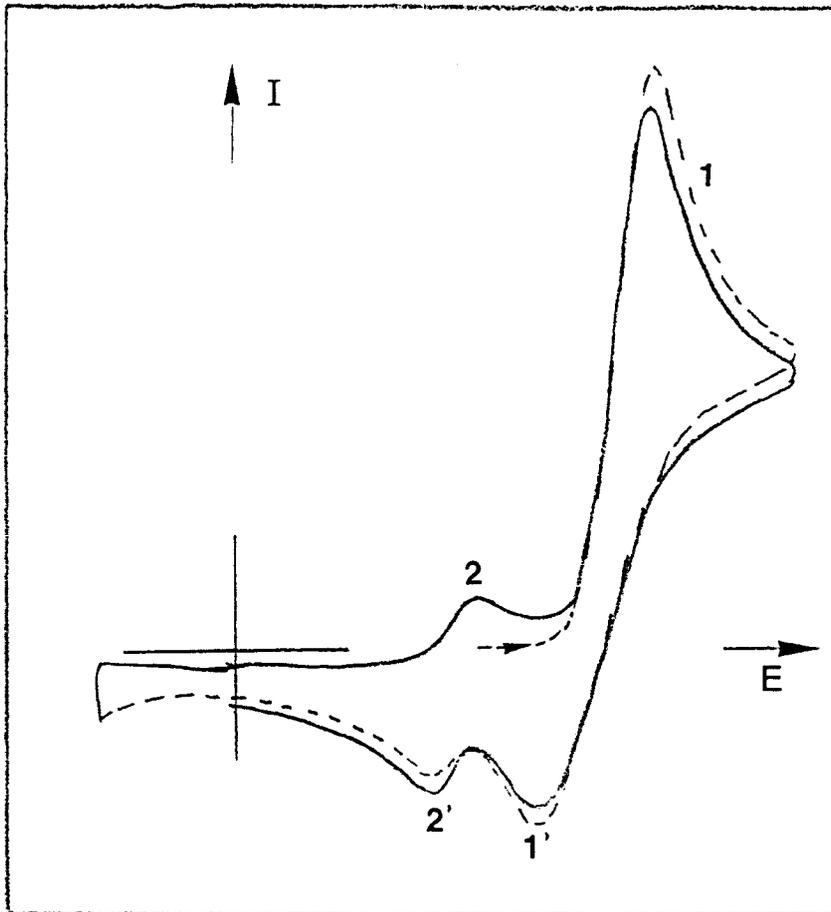
Tableau 5

Il est à noter qu'une variation d'intensité du courant est remarquée, mais il est très difficile de connaître le nombre d'électrons échangés lors de l'oxydation de l'acide gentisique. En effet, des réactions chimiques couplées modifient l'intensité du pic d'oxydation plus ou moins fortement selon le pH.

Venons-en maintenant à l'étude proprement dite de l'acide gentisique en voltammétrie cyclique. Seules les courbes potentiellement exploitables seront étudiées : la première à pH acide, la seconde à pH 12 et la troisième à pH 14.

a- $pH \equiv 1,0$; concentration en acide gentisique $\equiv 6,9 \cdot 10^{-3} M$

La forme de la courbe est décrite sur la figure 7.



diamètre de l'électrode de Pt : 2 mm

sous N_2

----- 1^{er} balayage $v = 50 \text{ mV/s}$

_____ 2^{ème} balayage

$E_{p1} = 0,61 \text{ V}$ $i = 65,4 \mu\text{A}$

$E_{p1'} = 0,35 \text{ V}$ $i = -15,7 \mu\text{A}$

$E_{p2'} = 0,25 \text{ V}$ $i = -16,5 \mu\text{A}$

$E_{p2} = 0,36 \text{ V}$ $i = 5,5 \mu\text{A}$

Figure 7

Nous observons dans un premier temps l'oxydation de l'acide gentisique 1. Lors du balayage retour, l'acide gentisique oxydé est réduit mais le pic 1' de réduction est plus petit que le pic d'oxydation [$i_{p1'} / i_{p1} = 0,43$]. Une réaction chimique se produit. En effet, un signal 2' apparaît. Le voltammogramme ressemble à ceux obtenus dans le cas d'un mécanisme ECE.

Lors de l'étude de l'autoxydation de l'acide gentisique en présence d'oxygène (voir partie suivante), le radical semi-quinonique du 1,2,4-trihydroxybenzène (THB) a été observé. Nous avons donc pensé que le produit à l'origine des pics 2 et 2' était probablement le 1,2,4-trihydroxybenzène. En ajoutant du THB au mélange donnant la courbe ci-dessus, nous remarquons une légère différence entre le pic 2 et le pic d'oxydation du THB. De plus, le signal 2' et le signal de réduction du THB ne correspondent pas. Lorsque le THB est placé seul dans les mêmes conditions de pH, les valeurs de potentiels d'oxydation et de réduction sont les suivantes :

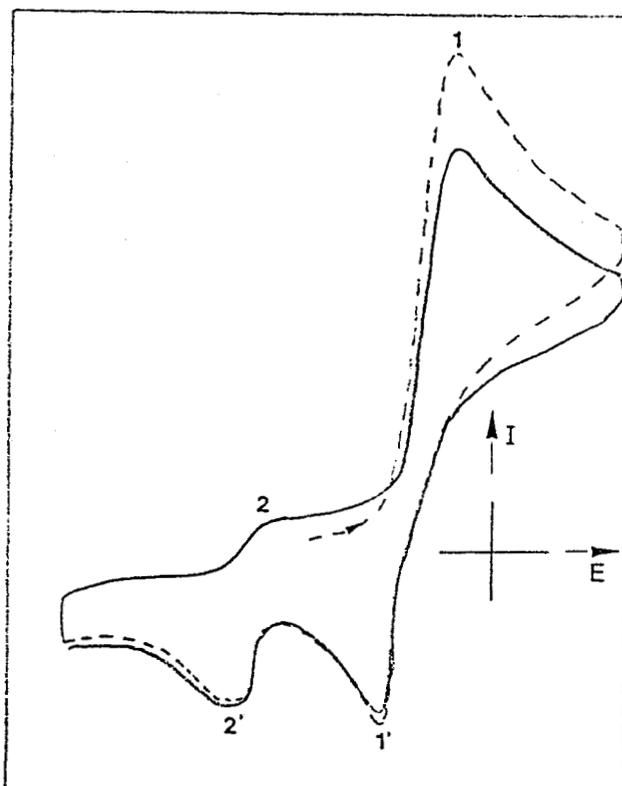
$$E_{p1} = 0,36 \text{ V} \qquad E_{p1'} = 0,15 \text{ V}$$

Nous remarquons que les potentiels $E_{p1'}$ du THB et $E_{p2'}$ de l'acide gentisique, à ce pH, sont éloignés.

Plusieurs autres hypothèses peuvent être avancées pour l'attribution des signaux 2 et 2'. En effet, nous pouvons penser à la formation de dimères, de produits de substitution, Le nombre de composés est trop important pour pouvoir d'une part les synthétiser et d'autre part les étudier.

b. $\text{pH} = 12,0$; concentration en acide gentisique $= 7,3 \cdot 10^{-3} \text{M}$

L'allure de la courbe est celle de la figure 8.



diamètre de l'électrode de Pt : 2 mm

sous N_2

----- 1^{er} balayage $v = 50 \text{mV/s}$

_____ 2^{ème} balayage

$E_{p1} = -0,04 \text{ V}$ $i = 62,4 \mu\text{A}$

$E_{p1'} = -0,19 \text{ V}$ $i = -27,2 \mu\text{A}$

$E_{p2} = -0,41 \text{ V}$ $i = 18,7 \mu\text{A}$

$E_{p2'} = -0,49 \text{ V}$ $i = -6,3 \mu\text{A}$

Figure 8

Là encore, un mécanisme ECE peut être envisagé. Les pics 2 et 2' pourraient venir de la formation d'un acide trihydroxybenzoïque. Nous tenterons de vérifier cette hypothèse plus tard.

Il est à noter que lorsque la vitesse de balayage du potentiel augmente, la réaction chimique est mise en défaut et les signaux 2 et 2' disparaissent (figure 9).

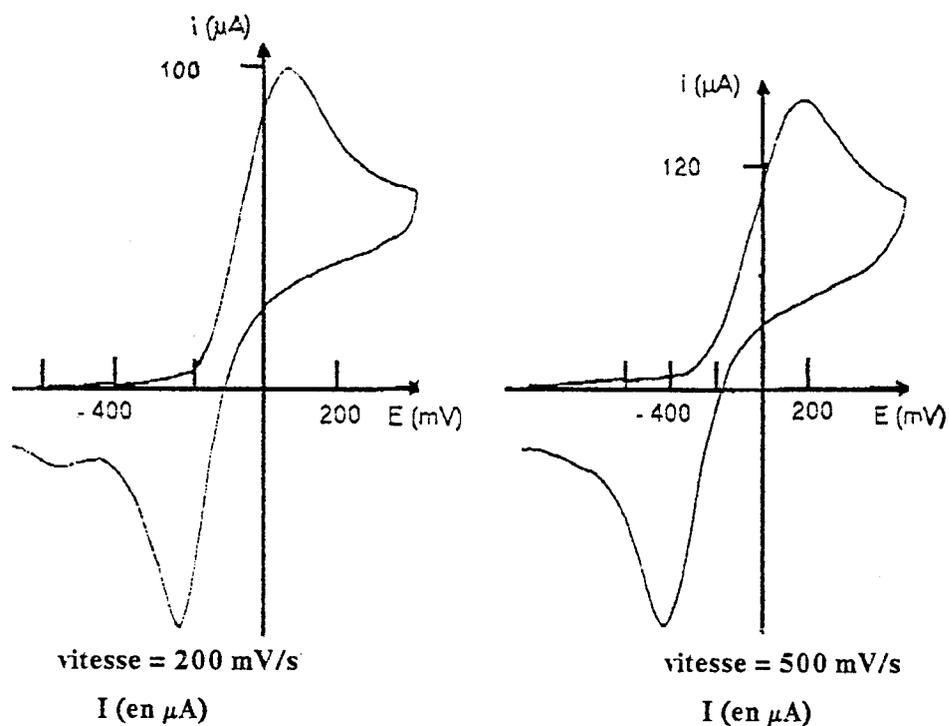


Figure 9

Lorsque le pH varie de 12 à 13,7, l'évolution décrite sur la figure 10 est remarquée.

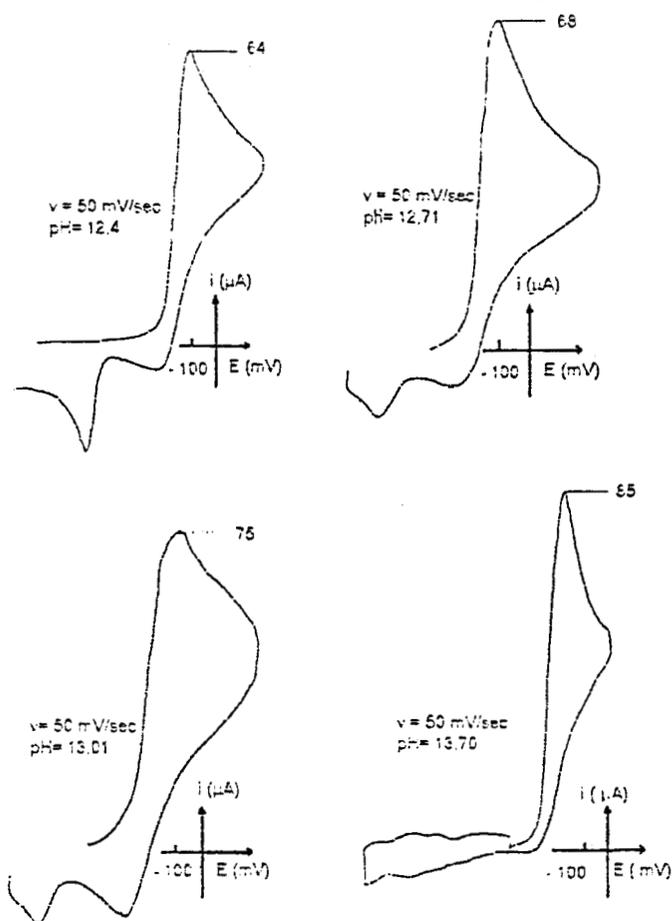
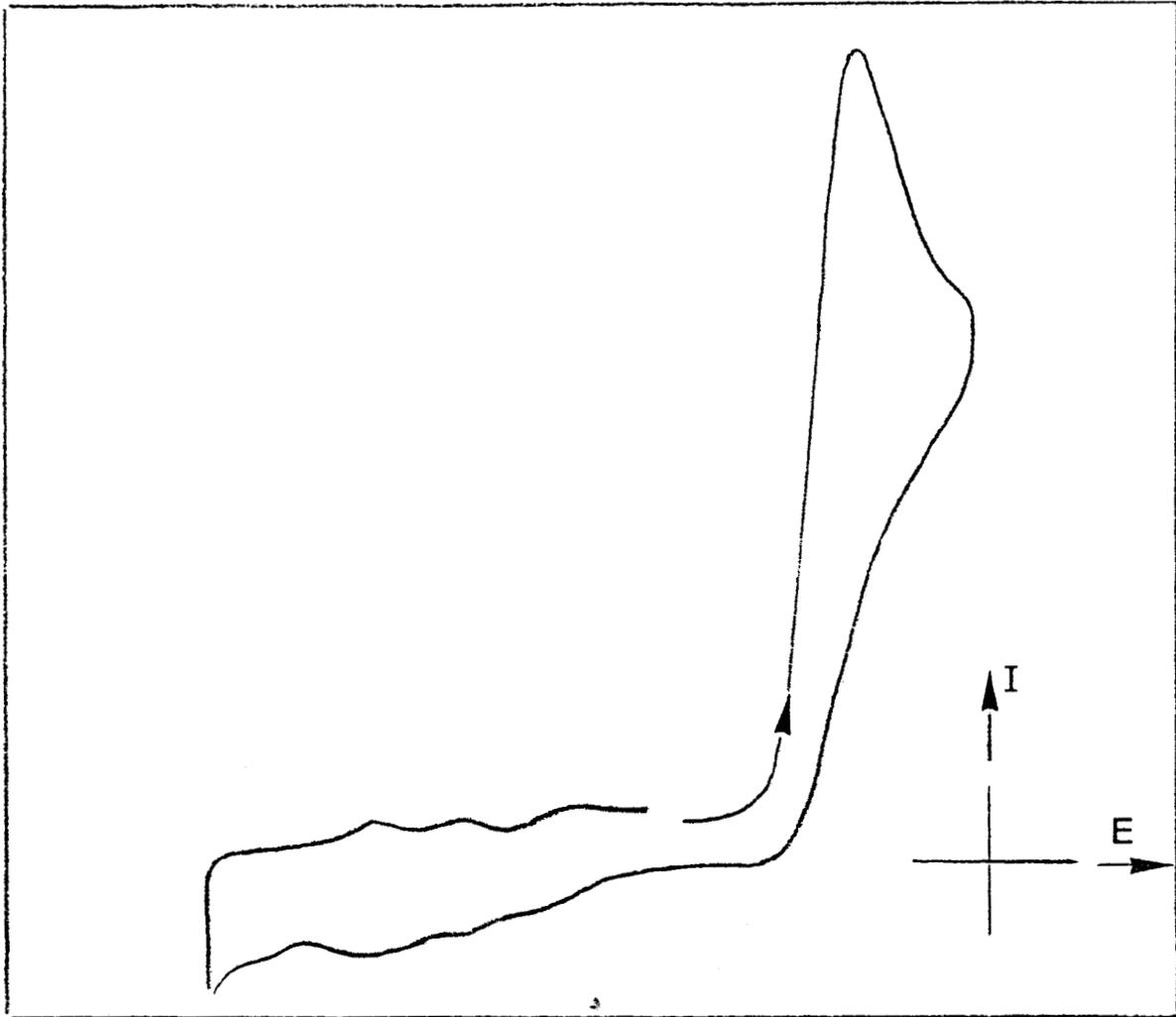


Figure 10

Le courant i_{pa} augmente et les pics de réduction deviennent de moins en moins bien définis.

c -pH = 13,7 ; concentration en acide gentisique = $6,1 \cdot 10^{-3}M$

Nous avons une courbe du type de la figure 11.



diamètre de l'électrode de Pt : 2 mm
 sous N_2 $v = 50 \text{ mV/s}$

$E_{p1} = -0,18 \text{ V}$ $i = 84,3 \mu\text{A}$

Figure 11

Le pic en réduction associé à l'oxydation de l'acide gentisique n'est pas observé. Le signal d'oxydation de celui-ci est élargi et est très intense du fait des réactions chimiques couplées au transfert électronique ou/et de la rapidité de ces dernières.

La voltammétrie cyclique nous a permis de mettre en évidence la complexité d'un système qui, au début, pouvait paraître simple. Par contre, dans notre cas, cette technique ne donne aucun renseignement sur la nature des composés formés. C'est pourquoi nous avons réuni deux techniques : l'électrochimie et la RPE.

II-ELECTROCHIMIE COUPLEE A LA R.P.E. : ETUDE DE L'ACIDE GENTISIQUE

A-Appareillage

Les expériences mettant en jeu électrochimie et RPE utilisent de nombreux dispositifs différents pour la cellule porte-échantillon.

Dans de nombreuses expériences électrochimiques, lorsqu'un signal apparaît en RPE, cela signifie que le produit d'une réaction à l'électrode est un radical ou un ion radicalaire.

La cellule électrochimique est réalisée en quartz suprasil. Elle est schématisée comme dans le schéma 1 :

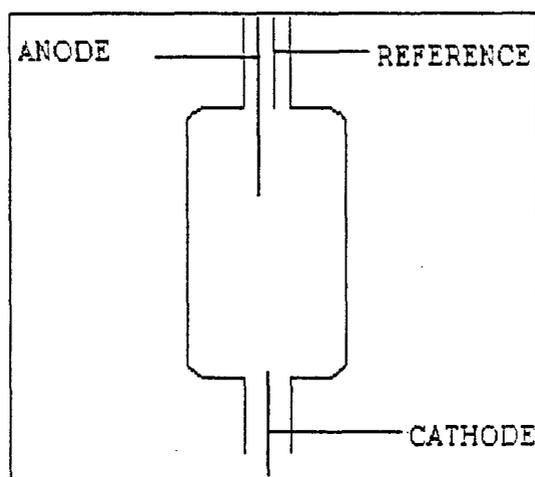


Schéma 1

Avec cette géométrie, la réaction à la cathode entraîne la formation de bulles d'hydrogène (réduction de l'eau en milieu basique). Celles-ci remontent et provoquent d'une part la création de courants intenses et d'autre part de perturbations sur les signaux enregistrés en RPE.

En inversant le système, l'anode vient se placer en bas. Mais il est impossible de mettre l'électrode de référence à ce niveau vu la conception même de la cellule. De plus, si cette dernière est en haut de la cellule, elle est beaucoup trop loin de l'anode pour donner des résultats corrects. C'est

pourquoi nous nous sommes passés de l'électrode de référence et avons travaillé en intensité imposée. Le schéma de la cellule devient donc (schéma 2) :

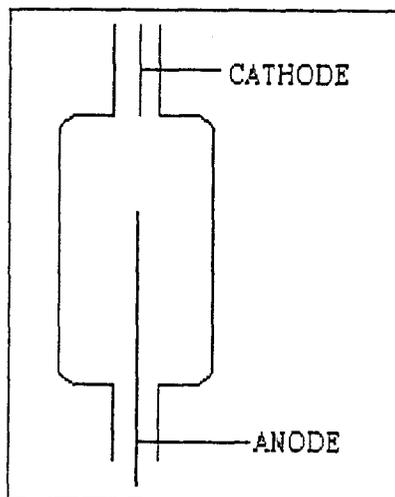


Schéma 2

La cathode et l'anode sont des fils de platine. Toutes ces manipulations ont été réalisées en absence d'oxygène (pompe à vide, tube de Schlenk,...). Les spectres RPE ont été enregistrés sur un appareil Varian E 109 équipé d'une cavité E 238 opérant dans le mode TM. Le champ est modulé à 100 KHz et la puissance microonde est de 5 mW. L'intensité du courant imposé varie de 200 à 700 μA .

B- Remarque préliminaire

Nous sommes conscients du fait que les radicaux formés peuvent provenir de réactions chimiques compétitives à un processus principal tout en étant de moindre importance. Cependant, le processus observé semble représentatif du phénomène d'autoxydation puisque certains radicaux sont formés dans les deux cas.

C- Etude selon le pH

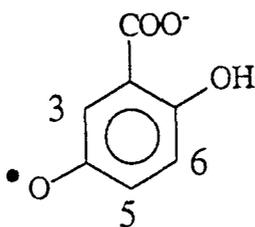
Comme dans l'étude de voltammétrie cyclique, les résultats diffèrent selon le pH. Trois valeurs de pH ont été considérées.

1- $pH < pK_{a2}$

Aucun radical n'est observé.

2- $pK_{a2} < pH < pK_{a3}$

A $pH = 12$, un signal très intense constitué de huit raies ~~est obtenu~~. Dixon et ses collaborateurs (5) ont déjà mis en évidence ce radical en milieu acide par ~~oxydation~~ Cérium IV. Il s'agit du radical primaire de l'acide gentisique, radical monohydrogéné :



Radical n°1

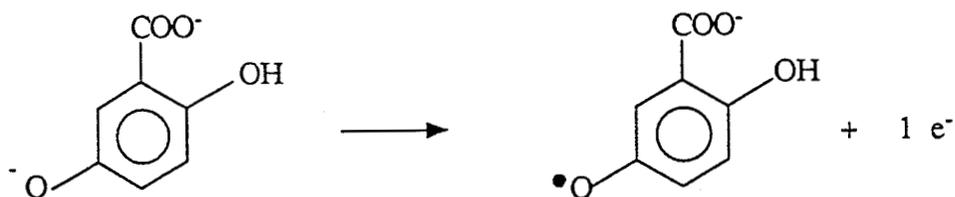
Les constantes de couplage de ce radical sont réunies dans le ~~tableau~~ 6.

Expérience	Littérature (5)
$a' = 2,62$ gauss	$a_3 = 2,60$ gauss
$a'' = 2,02$ gauss	$a_5 = 2,00$ gauss
$a''' = 2,22$ gauss	$a_6 = 2,25$ gauss

Tableau 6

On peut imaginer que dans notre cas, le radical n°1 puisse ~~se former~~ selon deux processus :

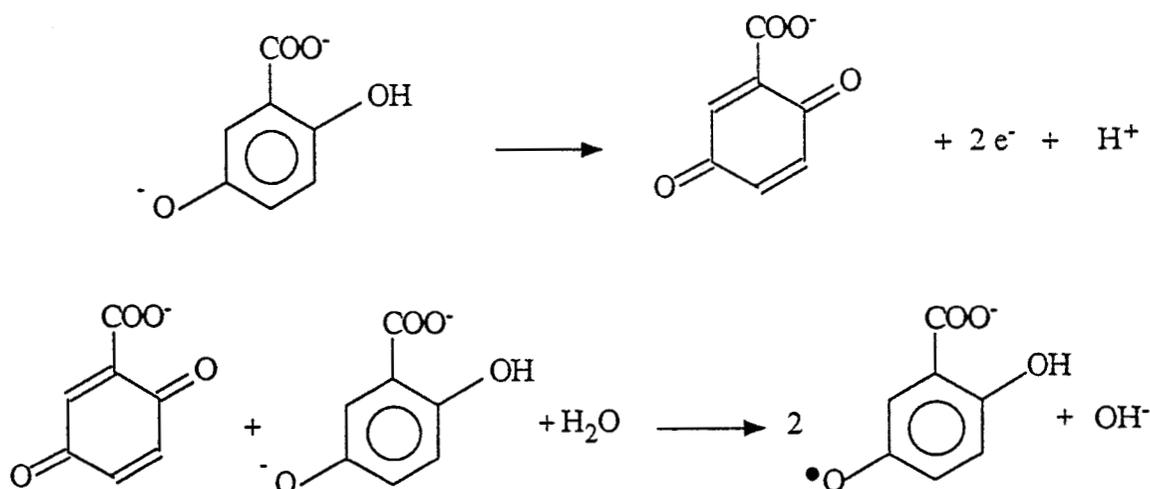
a- le premier est un transfert monoélectronique ~~impliquant~~ impliquant qu'une seule étape électrochimique :



L'acide gentisque est bien sous la forme dianionique puisque le pH est inférieur au pK_{a3} .

Le fait que le transfert soit monoélectronique et non biélectronique pourrait être expliqué par la présence d'une liaison hydrogène entre les fonctions COO^- et hydroxyle. En effet, celle-ci empêcherait le départ du dernier hydrogène et donc la formation de la benzoquinone substituée.

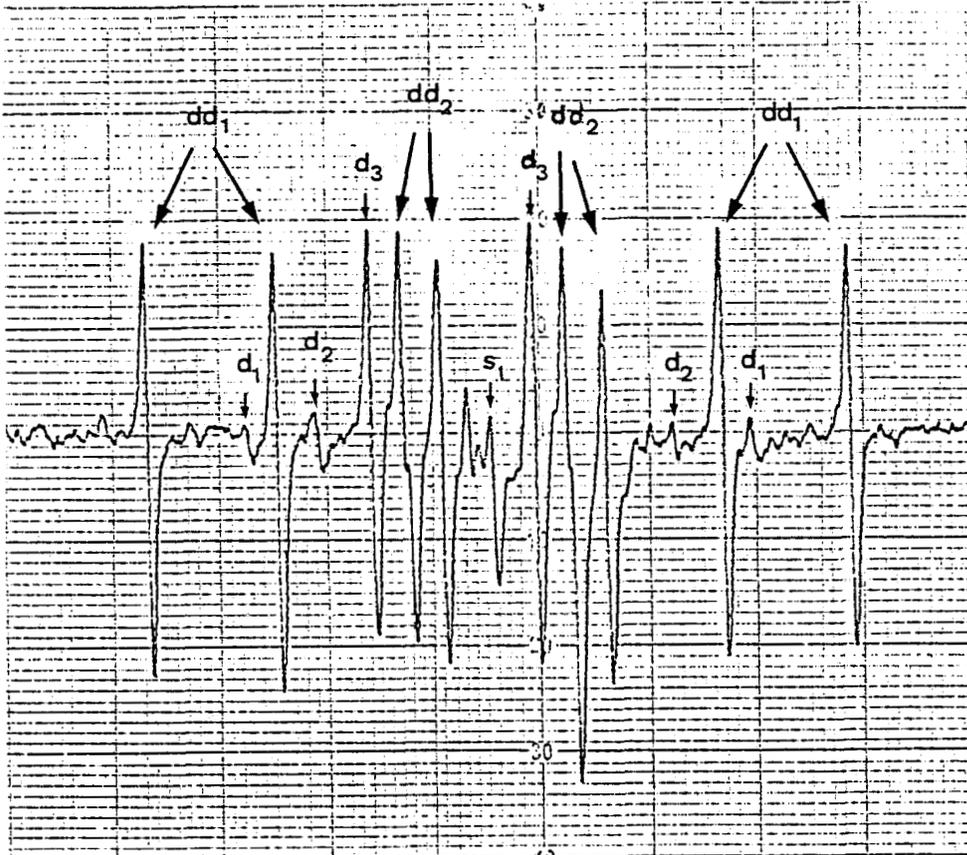
b- le deuxième processus est un transfert biélectronique suivi d'une réaction d'antidismutation ou d'amphotérisation entre la quinone formée par oxydation de l'acide gentisque et l'acide gentisque non oxydé :



Nous serions dans le cas d'un mécanisme EC où le C correspondrait à la réaction d'amphotérisation.

3- pH > pK_{a3}

A un pH égal à 13,5, de nombreuses raies apparaissent (spectre 1).



Spectre 1

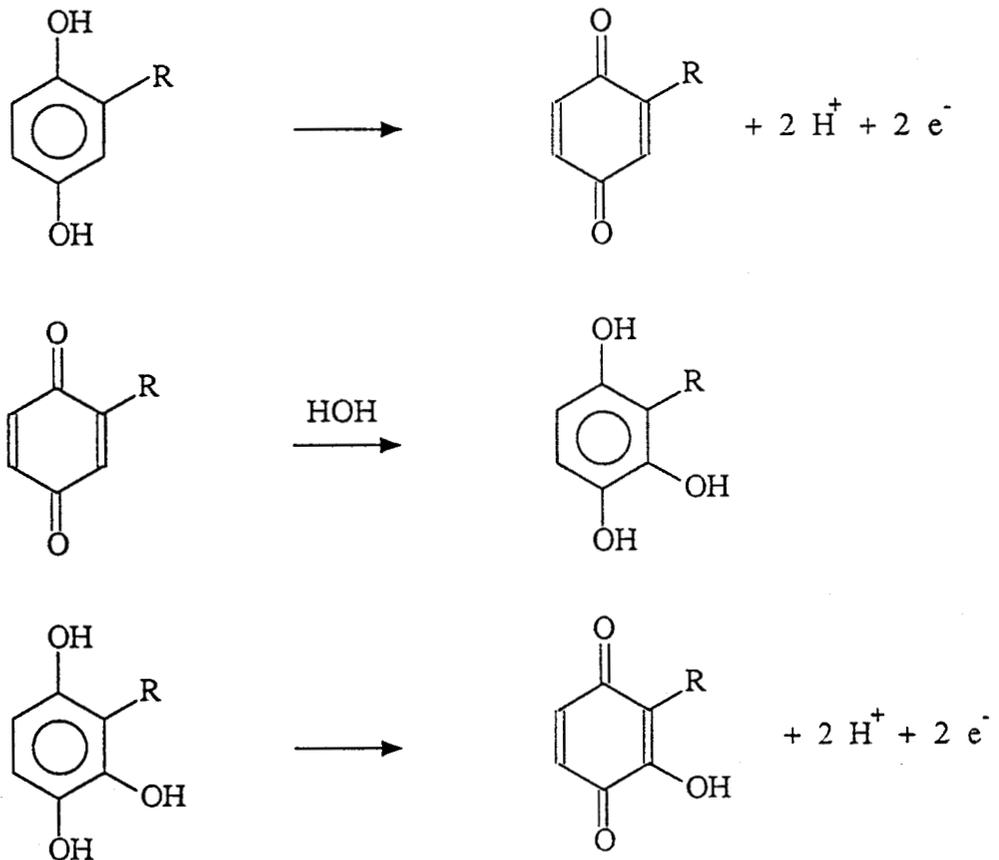
Mais le signal correspondant au radical primaire de l'acide gentisique n'est plus observé. La simulation de spectres nous a permis de mettre en évidence plusieurs signaux :

- un double doublet de constantes de couplage : $a = 1,20$ gauss (dd_1)
 $a' = 5,35$ gauss
- un deuxième double doublet de constantes de couplage : $a = 0,35$ gauss (dd_2)
 $a' = 1,50$ gauss
- trois doublets dont les constantes de couplage sont :
 $a = 4,70$ gauss (d_1) $a = 3,32$ gauss (d_2) $a = 1,5$ gauss (d_3)
- un singulet (s_1)

a- Les doubles doublets

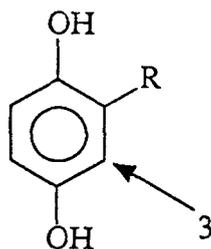
α - première hypothèse: les acides trihydroxybenzoïques

Un double doublet sous-entend la présence de deux hydrogènes d'environnement différent sur le cycle aromatique. Ceci signifie qu'il y a probablement eu substitution d'un hydrogène de l'acide gentisique par un groupement hydroxyle. En effet, Papadouchado et son équipe (5) ont mis en évidence un radical trihydroxylé par électrolyse de l'acide gentisique. Leur étude portait sur des phénols *para*-hydroxylés substitués par différents groupements. Ils ont ainsi remarqué que lorsque le substituant était un groupement COOH, CHO, NO₂, l'hydroxylation se faisait selon le processus suivant :



Ce mécanisme n'a pas été prouvé. Il faut préciser que cette étude a été faite en milieu acide perchlorique. Les auteurs ont aussi montré qu'un substituant tel que Cl, CH₃, OH ou H ne permettait pas l'hydroxylation.

Des calculs d'orbitales moléculaires ont indiqué que la position la plus susceptible de subir une substitution de ce type était la position 3.



Si nous considérons que cette hypothèse est correcte, nous remarquerons que le radical de l'acide 2,3,6-trihydroxybenzoïque peut être formé de deux façons différentes.

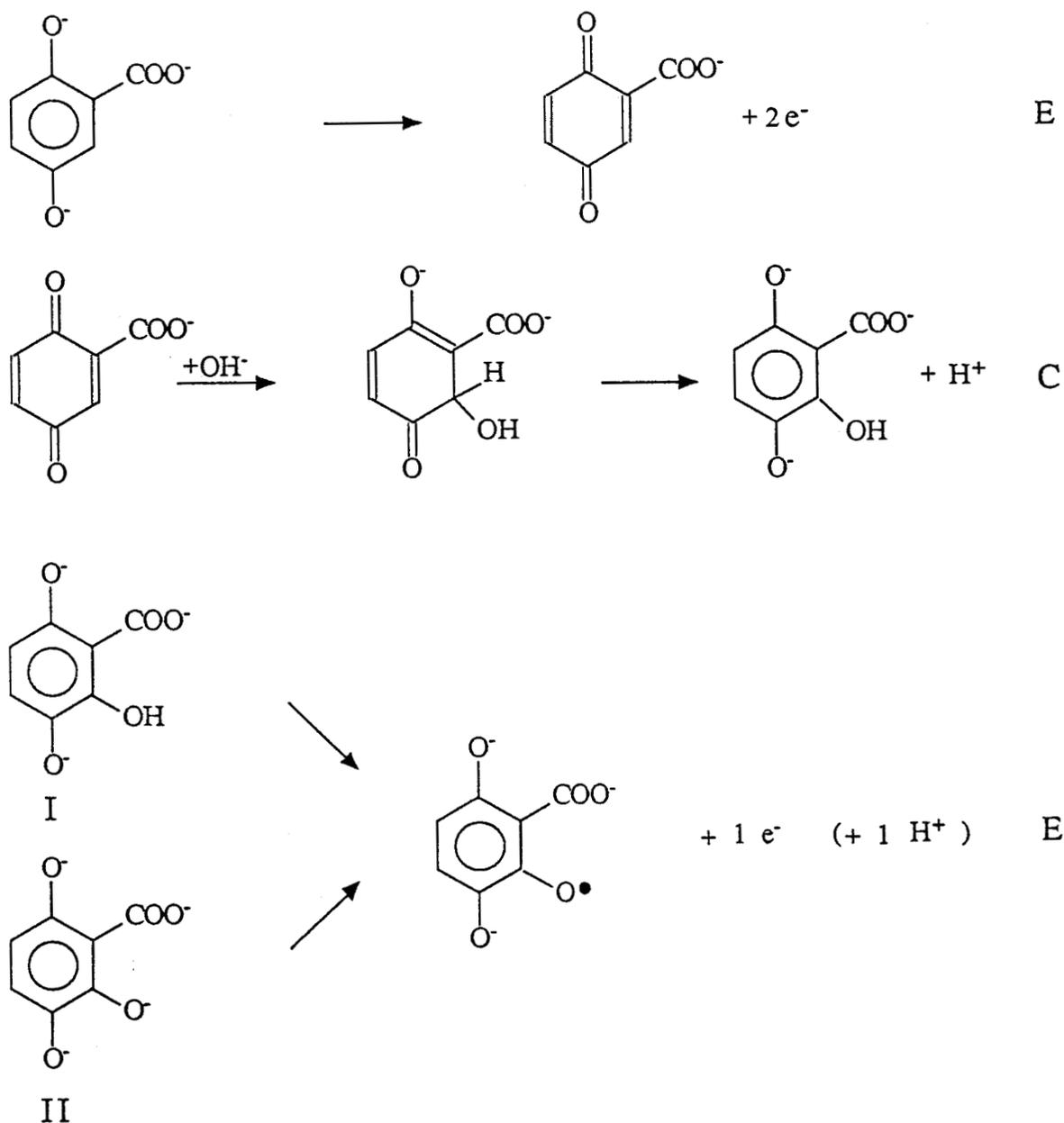
* proposition n°1

La première étape est un transfert monoélectrique. Nous avons donc formation du radical primaire semiquinonique de l'acide gentisique. Ce dernier est directement attaqué par l'anion $\text{OH}(\cdot)$ dans la seconde étape. Cependant, cette hypothèse ne peut être retenue. En effet, nous verrons plus loin que la réaction de substitution ne peut se faire que sur la forme quinonique de l'acide gentisique;

* proposition n°2

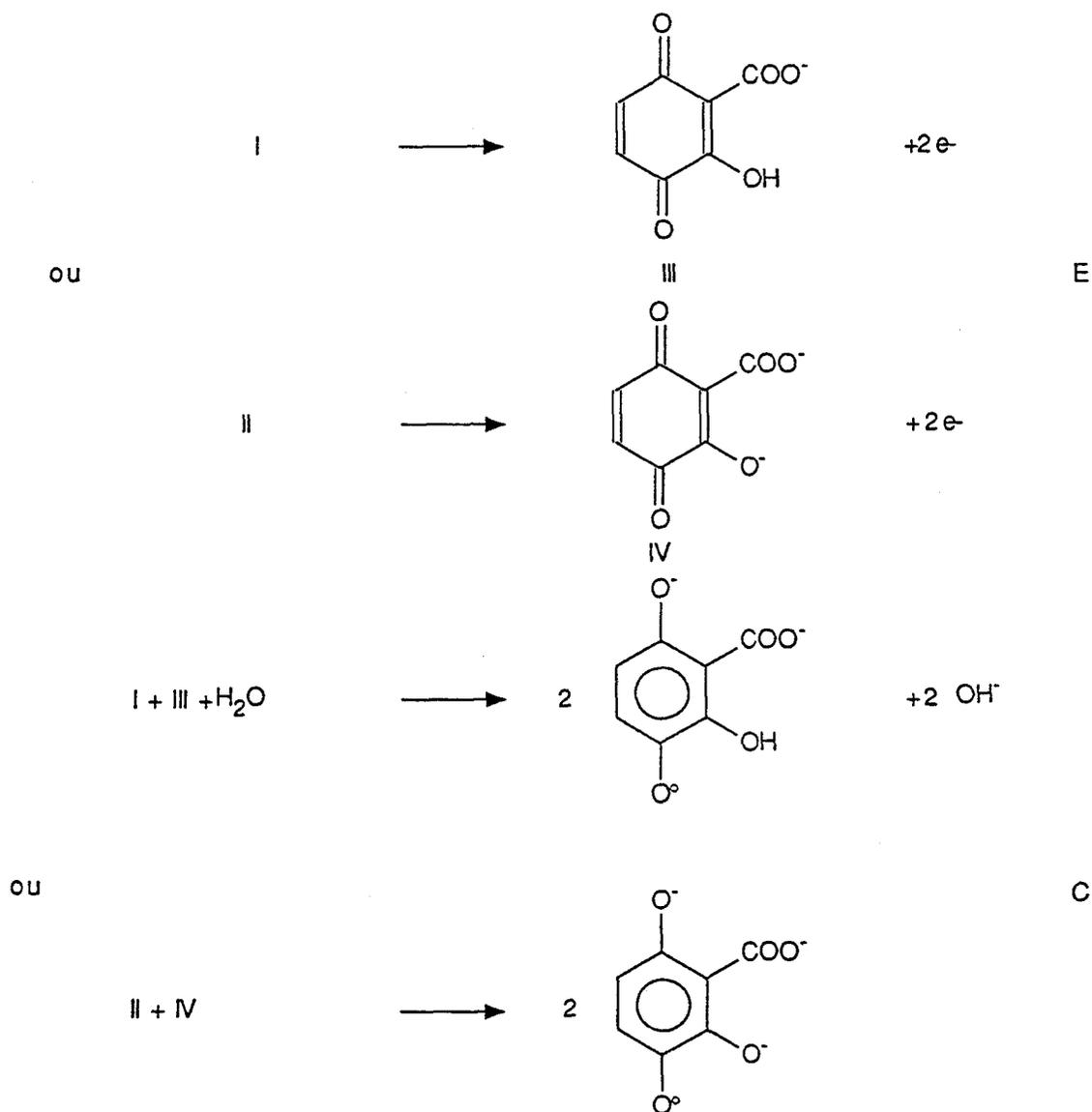
Le premier transfert électronique serait biélectronique permettant la formation de la benzoquinone substituée. Nous avons vu, dans le paragraphe précédent, que cette dernière pouvait subir une amphotérisation. Deux solutions s'offrent à nous : soit qu'il existe une compétition entre la réaction d'amphotérisation et la substitution par $\text{OH}(\cdot)$, soit que l'amphotérisation ne se fait pas sur la forme complètement déprotonnée de l'acide gentisique.

Dans le premier cas, il semble logique qu'à pH égal à 13,5, la réaction favorisée soit l'attaque de $\text{OH}(\cdot)$ puisque la concentration en anions hydroxydes est très importante. Dans ce cas, nous aurions un mécanisme ECE :



Nous indiquons les formes I et II parce que nous ne connaissons pas les pK_a de l'acide 2,3,6-trihydroxybenzoïque et donc la forme acido-basique réelle au pH considéré.

Il faut remarquer que dans ce cas, la deuxième réaction électrochimique fait intervenir un seul électron. Un processus biélectronique à ce niveau transformerait le mécanisme ECE en mécanisme ECEC ; le deuxième C correspondant à une réaction d'amphotérisation entre la quinone et le tri ou tétraanion de l'acide 2,3,6-trihydroxybenzoïque.



Il est à noter que les signaux obtenus dans ce cas sont beaucoup moins intenses que dans le cas où le pH est inférieur au pK_{a3} de l'acide gentisique. Ceci peut signifier que la réaction est moins importante dans ce cas-ci ou que le produit formé, en l'occurrence l'acide 2,3,6-trihydroxybenzoïque, est très vite consommé.

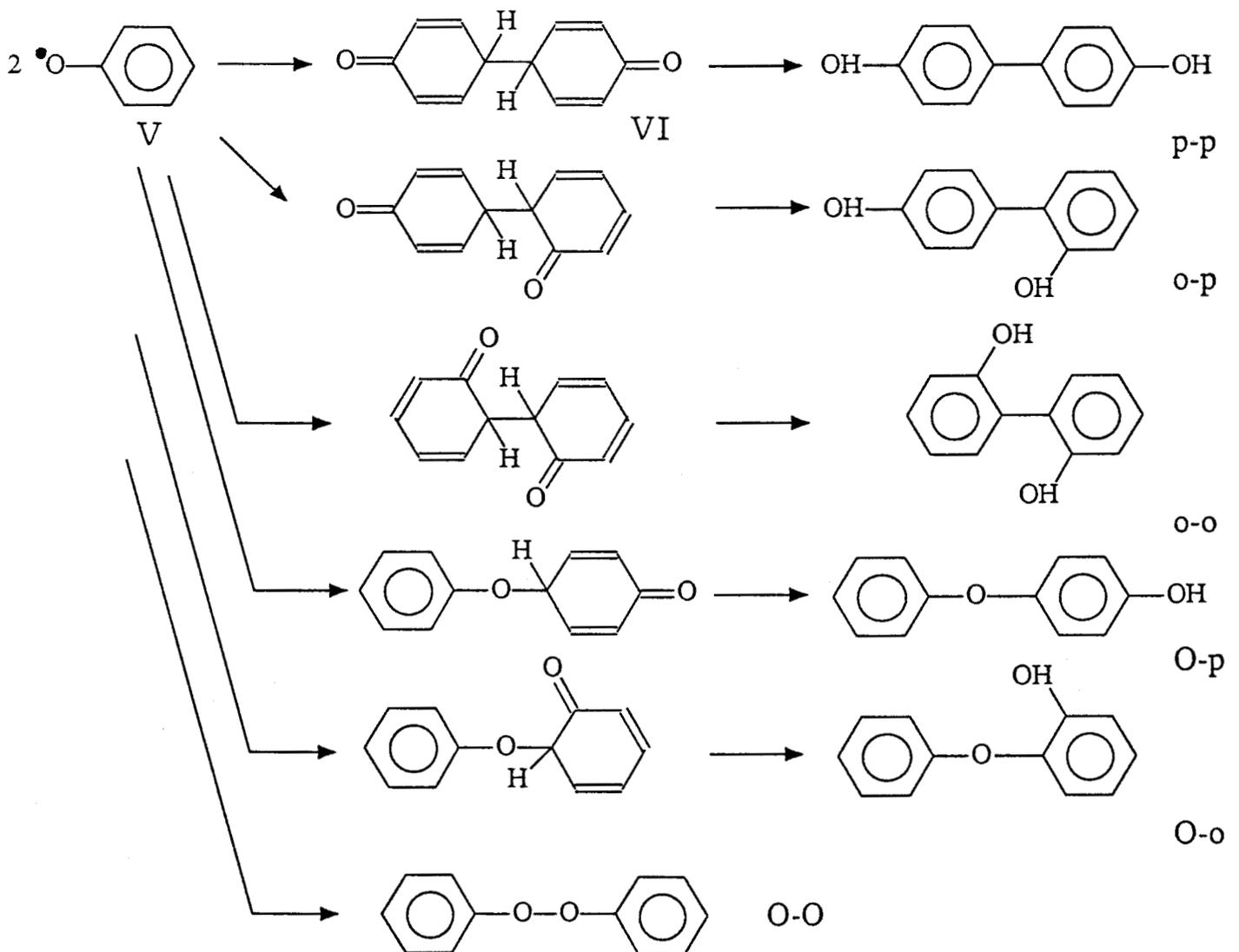
Pour vérifier l'hypothèse de substitution d'un hydrogène par un groupement hydroxyle, nous synthétiserons les différents acides trihydroxybenzoïques pouvant être formés au départ d'acide gentisique ; à savoir :

- l'acide 2,3,5-trihydroxybenzoïque
- l'acide 2,4,5-trihydroxybenzoïque
- l'acide 2,3,6-trihydroxybenzoïque

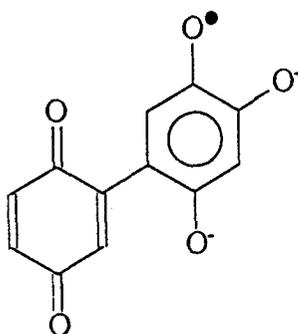
Nous développerons plus tard ces synthèses et l'étude de ces trois acides.

β - deuxième hypothèse: les dimères

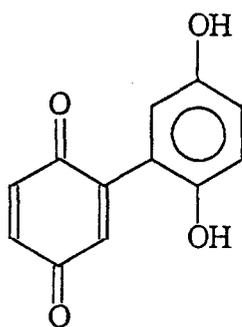
Les radicaux phénoxyles sont connus pour se dimériser (7). Quand deux radicaux phénoxyles C se combinent, plusieurs dimères peuvent être formés. En effet, nous pouvons avoir des composés de type o-o, o-p ou p-p ; de type O-o ou O-p et de type O-O (8).



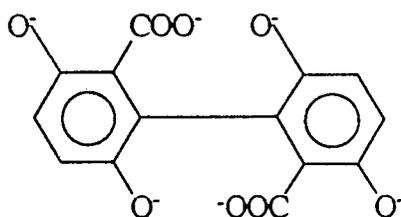
Notons que les dimères directement formés se tautomérisent rapidement dans des solvants protiques en donnant des produits stables aromatiques (ceci a été montré pour le dérivé 3,5,3',5'-tétra-t-butyl de VI (9,10)). En 1989, Ye et Schuler (11) ont montré que les produits formés préférentiellement étaient les composés o-o, p-p, o-p, O-p et O-o. Ils n'ont pu mettre en évidence la présence du diphenylperoxyde O-O. Précisons que les radicaux phénoxyles étaient produits par radiolyse pulsée. Lors de leur travail sur l'autoxydation des hydroquinones et quinones, Ashworth et Dixon (12) ont observé, en RPE, un signal correspondant à la structure suivante :



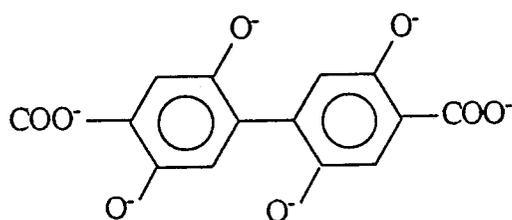
Ce radical ne présente pas de délocalisation sur le second cycle et a des constantes de couplage de 0,90 et 0,45 gauss qui sont similaires à celles obtenues par Reitz (13) au départ du quinol suivant :



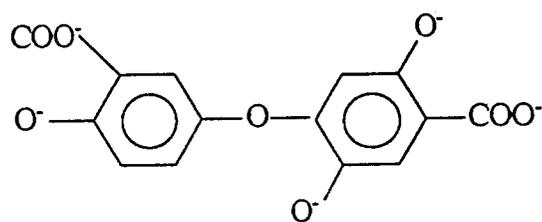
La mise en évidence de ces dimères nous amène à envisager la formation de produits de couplage de l'acide gentsique ou de ses dérivés. Pour limiter le nombre de combinaisons possibles, nous n'avons pas tenu compte de composés du type diphenylperoxyde. De plus, certains dimères ne peuvent se former à cause de l'encombrement stérique. Ainsi, par exemple:



Deux classes de produits sont alors obtenues selon que le couplage se fasse par un oxygène ou non. Par exemple :

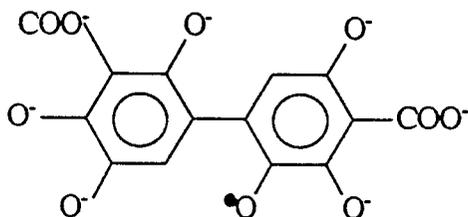


VII



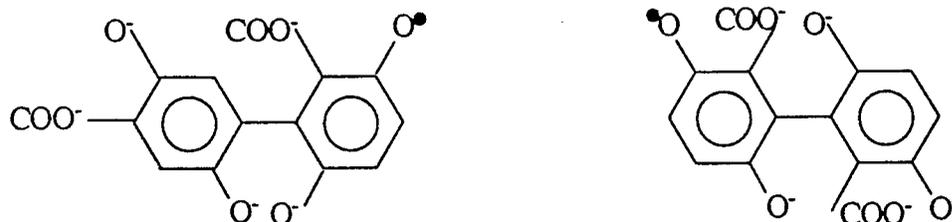
VIII

Le dimère VII est vraisemblablement plan ; ceci signifie qu'il y a conjugaison entre les deux cycles et que l'électron célibataire peut se délocaliser sur ceux-ci. Le signal RPE de ce radical serait formé d'un triplet de triplet. Nous n'avons pas observé de signaux aussi complexes. Le signal le plus complexe isolé est un double doublet. Le dimère doit être non symétrique et ne posséder que deux hydrogènes si il est plan. Il peut être par exemple :



En effet, la formation de ce radical n'est pas empêchée par encombrement stérique.

Considérons maintenant les dimères non plans, c'est à dire ceux de structure suivante :



Dans ce cas, seul le cycle portant l'électron célibataire du radical a de l'importance. Le deuxième cycle n'intervient absolument pas dans la conjugaison. Les signaux créés par ces deux dimères sont des doubles doublets.

Le même phénomène est observé dans le cas du produit VIII et de ses analogues. Synthétiser ce genre de dimères semble impossible vu le nombre important de ceux-ci. Nous avons donc eu recours aux calculs théoriques (Mac Lachlan et INDO) pour identifier les molécules impliquées. Les méthodes seront développées dans un prochain paragraphe.

La structure des doubles doublets peut donc être :

- soit des radicaux d'acides trihydroxybenzoïques
- soit des dimères

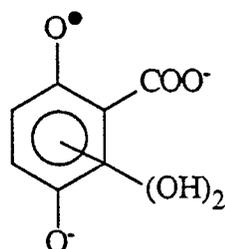
Venons- en maintenant aux doublets.

b- les doublets

Dans ce cas, un seul hydrogène sur le ou les cycles aromatiques est suffisant pour engendrer un tel signal.

α - première hypothèse: les acides tétrahydroxybenzoïques

Le radical obtenu après l'hydroxylation de l'acide gentisique peut s'oxyder et être à son tour attaqué par un ion $\text{OH}(\cdot)$. Ceci donne naissance à un radical de type suivant :

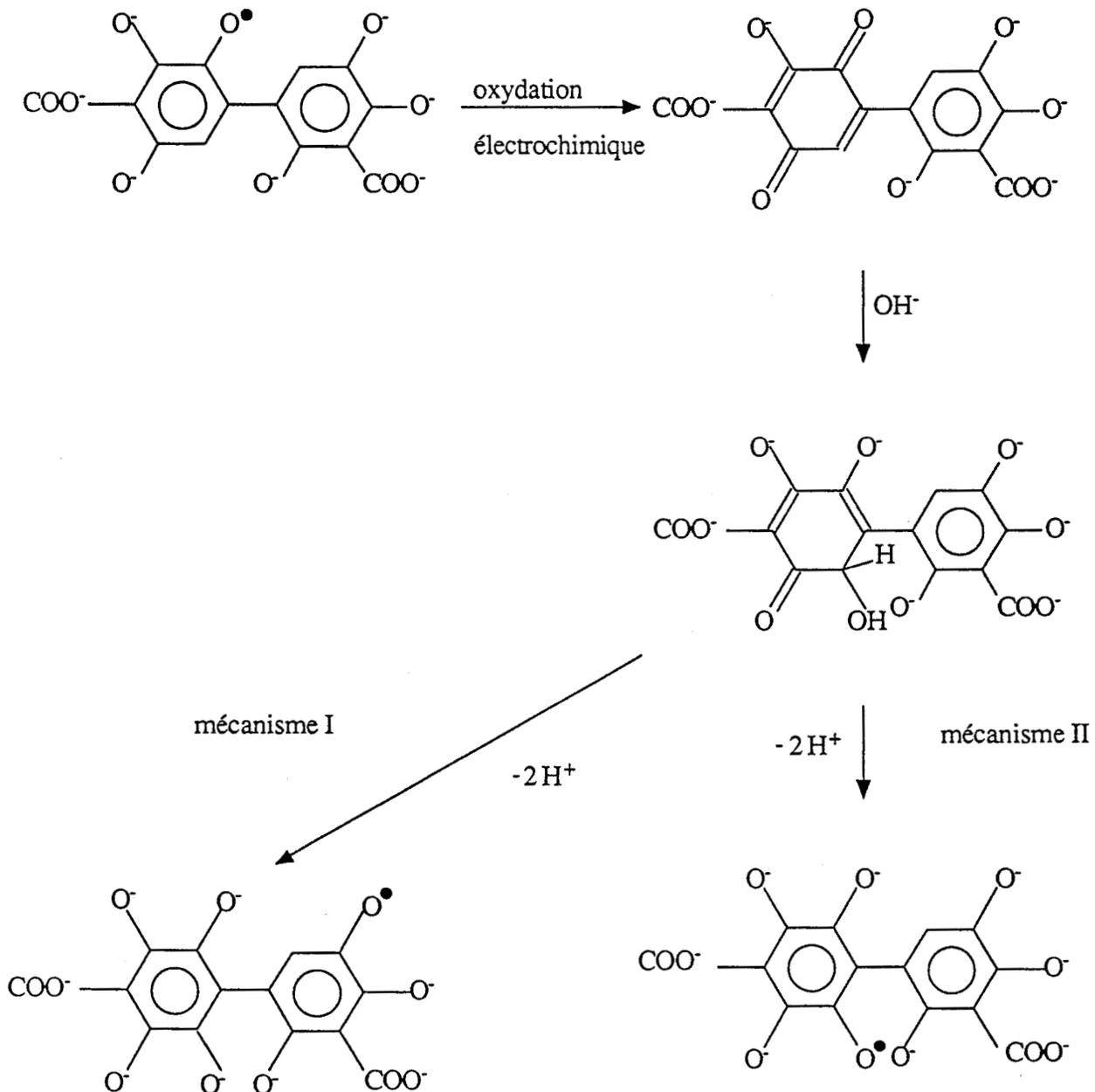


Il reste un seul hydrogène sur le cycle aromatique et ce radical peut créer un signal doublet.

Des calculs ont été faits sur les différents radicaux tétrahydroxylés (voir dans un prochain paragraphe).

β - deuxième hypothèse: les dimères substitués

Les dimères que nous avons décrits précédemment peuvent subir une attaque de OH^- et ainsi ne garder qu'un seul hydrogène sur les deux cycles. En effet, nous aurions par exemple :



Le radical formé par le mécanisme II a peu de chance de rester plan et le deuxième cycle n'intervient alors plus dans la conjugaison. Comme il ne reste plus d'hydrogène sur le cycle portant l'électron célibataire, le signal de ce radical observé en RPE serait un singulet et non plus un doublet. Par contre, le mécanisme I donne naissance à un radical portant encore un hydrogène donc permettant d'obtenir un doublet en RPE. Il est à noter que des réactions de même type peuvent être réalisées sur les composés de type éther.

La structure des doublets peut donc être :

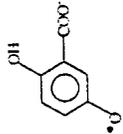
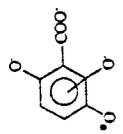
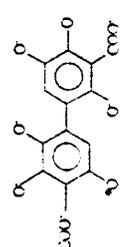
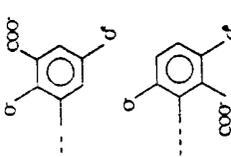
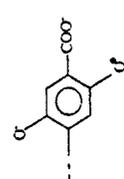
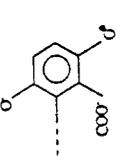
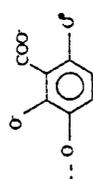
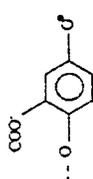
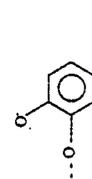
- des radicaux d'acides tétrahydroxybenzoïques
- des dimères

c- le singulet :

Un singulet signifie qu'il ne reste plus d'hydrogène sur le cycle aromatique. La première hypothèse consiste à la formation d'un radical de l'acide pentahydroxybenzoïque. Celui-ci serait formé par une dernière attaque de $\text{OH}(\cdot)$ sur l'(ou les) acide(s) tétrahydroxybenzoïque(s).

La deuxième hypothèse est la présence de dimères. Ces derniers seront, dans la plupart des cas, non plans et totalement substitués.

Voici un tableau résumant la situation : (tableau 7)

pH	Nombre de raies	Type de signal	Structure	proposée ou définie	(particularités)
10,0 < pH < 12,7	8 raies	multiplet		définie	
pH > 12,7	1°) 4 raies	double doublet	<p>1°)</p> 	(3 possibilités)	
			<p>2°)</p> <p>a.</p>  <p>dimère plan non symétrique</p> <p>b.</p>  <p>dimère non plan</p>  <p>dimère non plan</p>  <p>dimère non plan</p>		
			<p>c.</p>   	le deuxième cycle n'intervient pas dans la conjugaison	

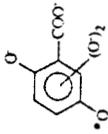
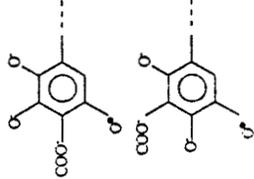
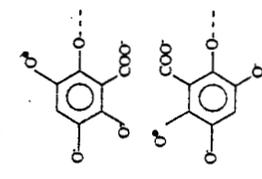
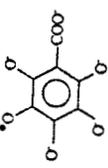
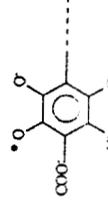
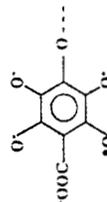
pH	Nombre de raies	Type de signal	Structure proposée ou définie (particularités)
	2°) 2 raies	doublet	<p>1°</p>  <p>2°</p> <p>(3 possibilités)</p> <p>a</p>  <p>b</p> 
3°) 1 raie		singulet	<p>1°</p>  <p>2°</p> <p>a</p>  <p>b</p> 

Tableau 7

III-SYNTHESE DES DIFFERENTS ACIDES TRIHYDROXYBENZOIQUES

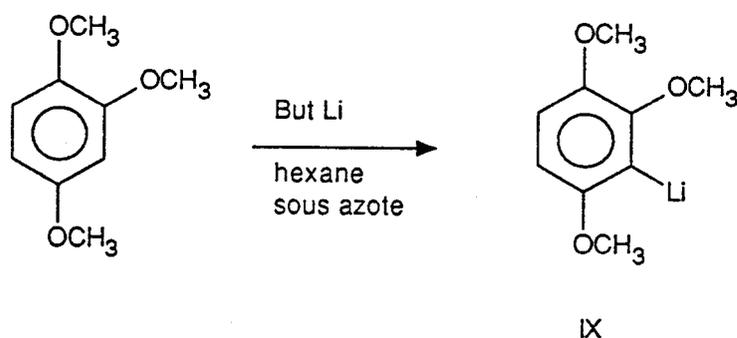
Les acides trihydroxybenzoïques sont synthétisés par clivage des acides triméthoxybenzoïques correspondants.

A- Synthèse des acides triméthoxybenzoïques

L'acide 2,4,5-triméthoxybenzoïque est commercial.

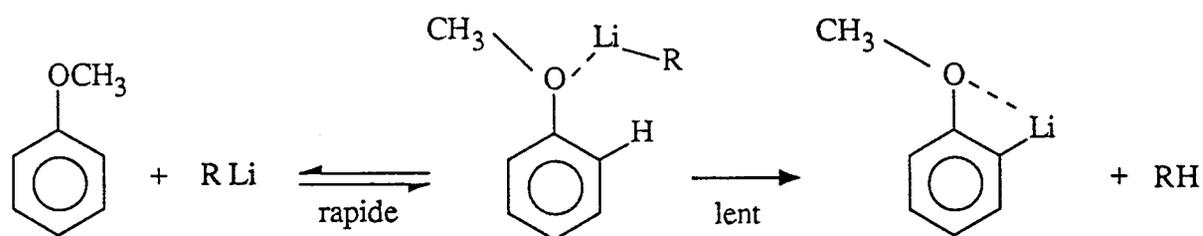
1- L'acide 2,3,6-triméthoxybenzoïque

Cette préparation a été décrite en partie par Gilman et Thirtle (14). La première étape consiste en l'arrachement d'un hydrogène porté par le carbone 3 du 1,2,4- triméthoxybenzène par action du butyllithium.

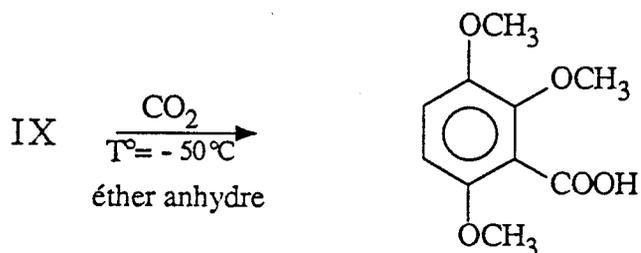


Le triméthoxybenzène en solution dans l'hexane est attaqué par le n-butyllithium et forme ainsi le lithien IX.

La réaction avec le n-butyllithium se passe en deux étapes (15) comme l'ont montré Finnegan et Altschuld pour l'anisole.



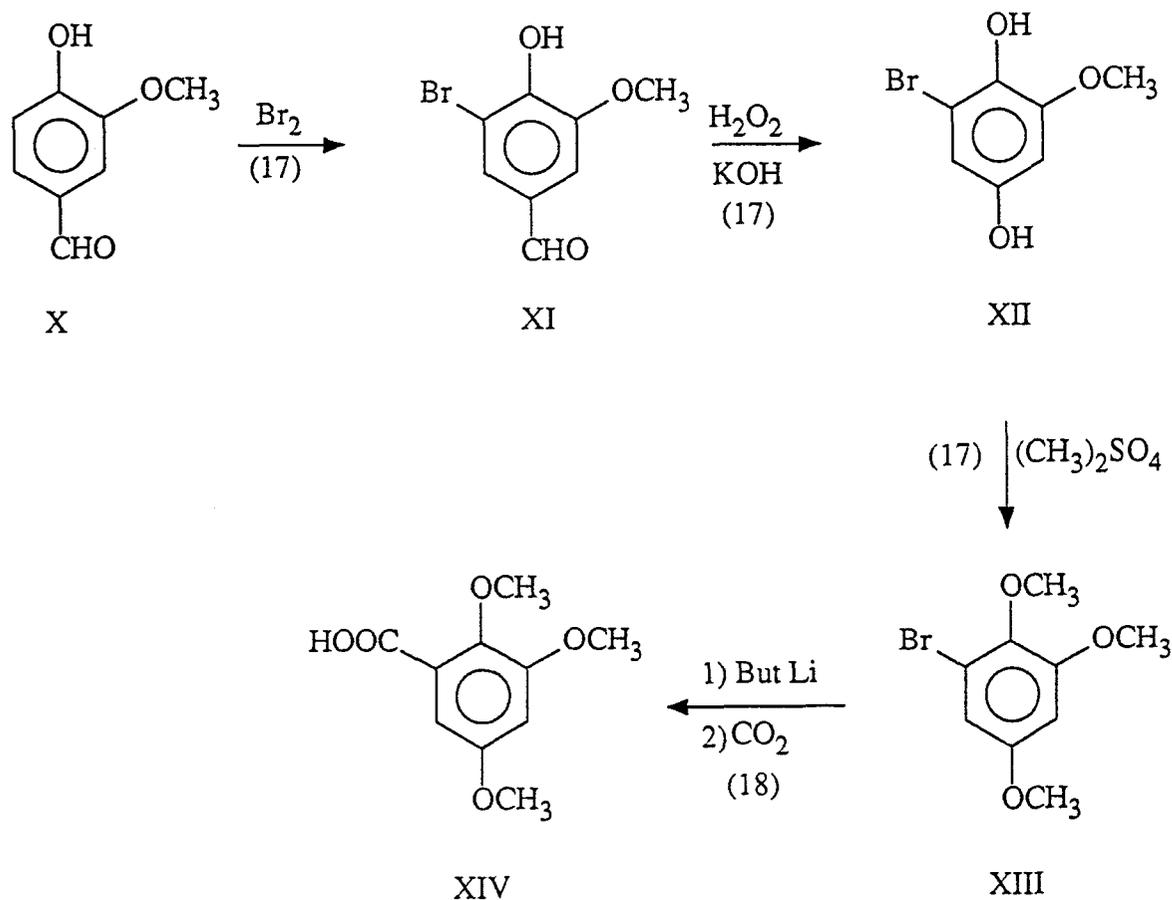
L'addition de carboglace sur le lithien IX conduit à l'acide 2,3,6-triméthoxybenzoïque. Cette deuxième étape se fait à -50°C dans l'éther anhydre (16).



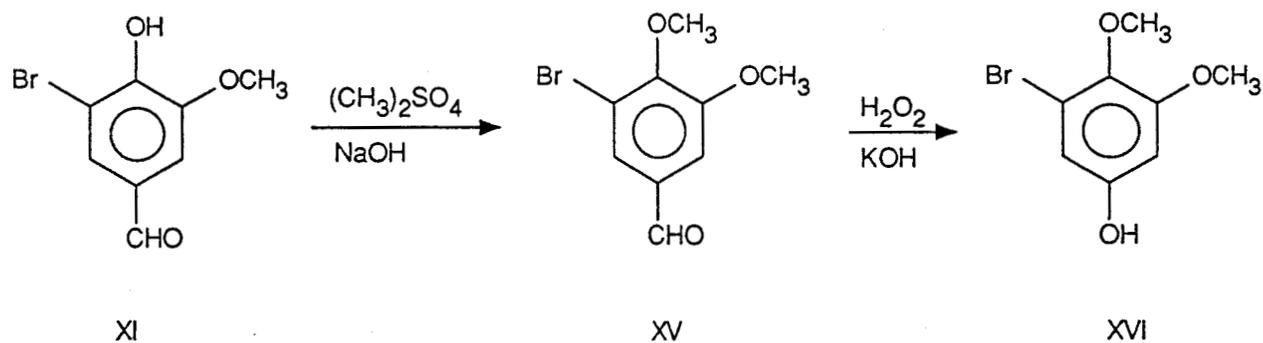
On obtient un rendement de 90 %.

2- L'acide 2,3,5-triméthoxybenzoïque

Cette synthèse a été très délicate ; les articles étant très anciens et peu explicites. Différentes voies de synthèse ont été abordées.

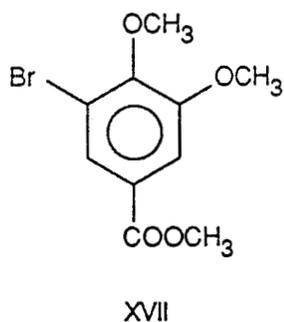
a- Première voie α -schéma général : β -procédure et problèmes rencontrés lors de cette synthèse :

La synthèse de la bromovanilline (XI) au départ de la vanilline (X) s'effectue avec un rendement de 85 %. Par contre, la transformation de XI en 2,5-dihydroxy-3-méthoxybromobenzène (XII) se révèle impossible en suivant le mode opératoire décrit par Dorn (17). Après de multiples essais, nous avons pensé que la fonction hydroxyle empêchait la modification voulue. Nous avons donc tenté de transformer cette fonction en groupement méthoxy.

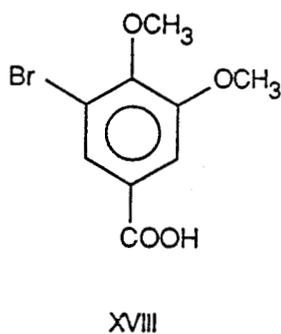


La méthylation du composé XVI aurait dû nous donner le composé XIII.

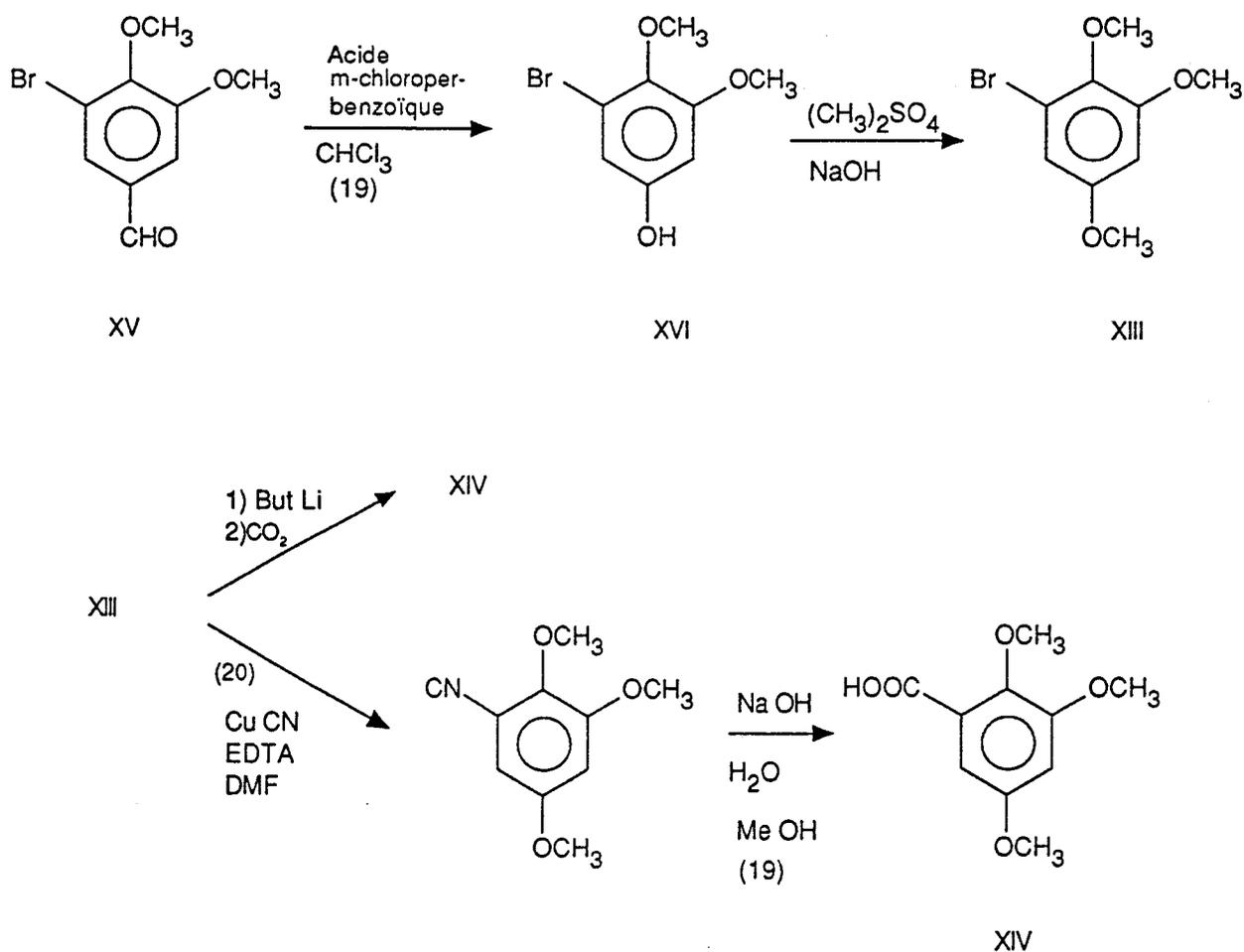
En réalité, on obtient le composé XVII.



Il semblerait que l'aldéhyde XV soit oxydée en acide 3-bromo-4,5-diméthoxybenzoïque XVIII qui serait ensuite estérifié en ester méthylique XVII.



Nous avons donc envisagé une autre voie d'accès.

b- Deuxième voie α -schéma général β -procédure

La transformation du bromo-vératraldéhyde (XV) en 3-bromo-4,5-diméthoxyphénol (XVI) à l'aide de l'acide *m*-chloroperbenzoïque se fait à reflux, sous azote, dans le chloroforme sec. Le rendement de cette réaction est de 95 %. La préparation du composé V se fait en présence de soude (21). Le sulfate de diméthyle est ajouté goutte à goutte au mélange réactionnel (rendement : 90 %). Le rendement de la dernière étape est, quant à lui, assez faible (40%). Le mode expérimental est identique à celui utilisé pour la synthèse de l'acide 2,3,6-triméthoxybenzoïque.

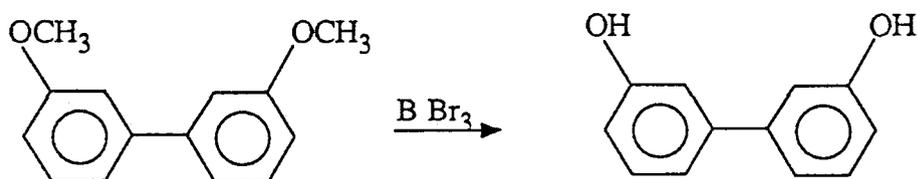
B- Synthèse des acides trihydroxybenzoïques.

1- Introduction

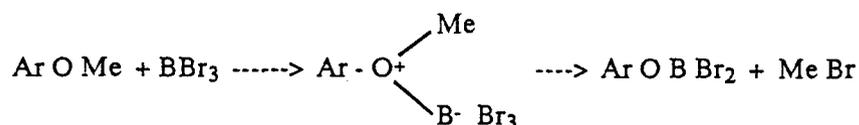
Le clivage des éthers est une réaction très importante en synthèse organique particulièrement dans la dégradation ou la transformation des produits naturels ainsi que pour la synthèse de molécules polyfonctionnelles. La conversion des alcools ou des phénols en éthers et leur clivage constituent l'un des moyens de protection des groupes hydroxyles (22,23,24). Le clivage des éthers est aussi impliqué dans la fabrication de nombreux médicaments.

Nous nous sommes particulièrement intéressés au clivage des aryl méthyl éthers. La déméthylation des aryl méthyl éthers peut être effectuée par une grande variété de réactifs (22) mais il est souvent nécessaire d'employer des températures élevées. Ainsi, il est fréquent de traiter à reflux le composé mélangé à une solution d'acide bromhydrique dans l'acide acétique.

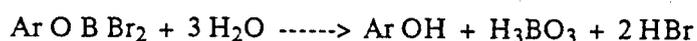
Le tribromure de Bore (BBr_3) doit être considéré comme un réactif de choix pour le clivage des éthers. En effet, il est utilisé pour déméthyliser les groupements protecteurs sous des conditions douces sans affecter d'autres groupes fonctionnels. Ainsi, BBr_3 ne détruit ni les fonctions esters ni les doubles liaisons. En 1942, Benton et Dillon (25) ont été les premiers à reconnaître l'utilité de BBr_3 pour le clivage des éthers. C'est Mac Omie et son équipe qui ont réintroduit ce réactif en 1963 (26,27). Ils ont synthétisé le 3,3'-dihydroxy-biphényle au départ de 3,3'-diméthoxy-biphényle (27c).



La réaction se passe vraisemblablement via un complexe formé entre le réactif et l'atome d'oxygène de la fonction éther (27a).



Le complexe est hydrolysé et donne ainsi l'alcool recherché :



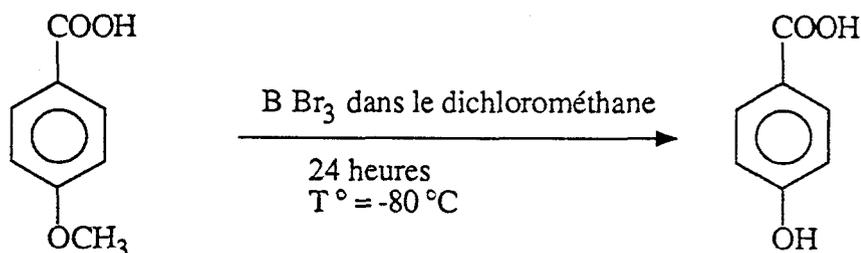
Les auteurs recommandent l'utilisation d'au moins un équivalent de BBr_3 pour chaque groupement méthoxy à cliver avec un équivalent supplémentaire de réactif pour chaque groupe contenant un azote ou un oxygène potentiellement basique (par exemple : $-CHO$, $-CN$, $-COOH$).

Les réactions sont généralement faites dans un solvant inerte (tels le dichlorométhane, le benzène ou le pentane) à température ambiante et pendant 12 à 15 heures. Le mélange est hydrolysé avec de l'eau et extrait à l'éther. Si une procédure encore plus douce est requise, les réactifs sont mélangés à $-80^\circ C$ et on laisse ensuite le mélange revenir à température ambiante.

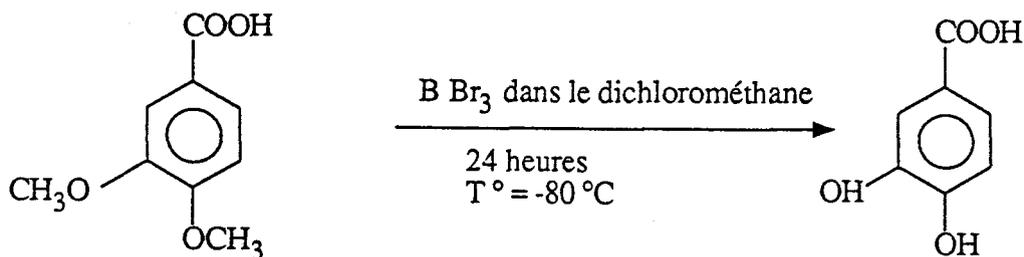
La déméthylation de toute une série de produits a été étudiée et les réactions ont des rendements variant de 10 à 90 %.

Citons par exemple les clivages :

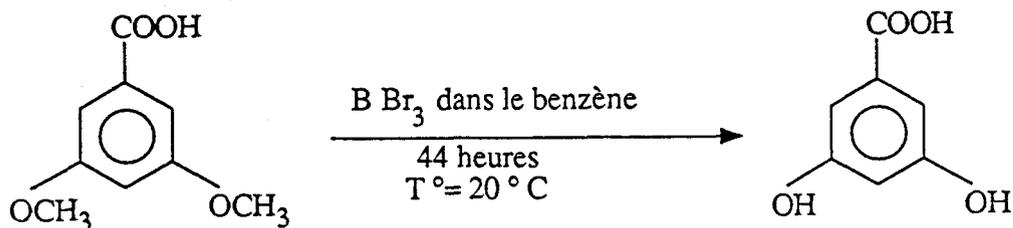
- de l'acide 4-méthoxybenzoïque (27a):



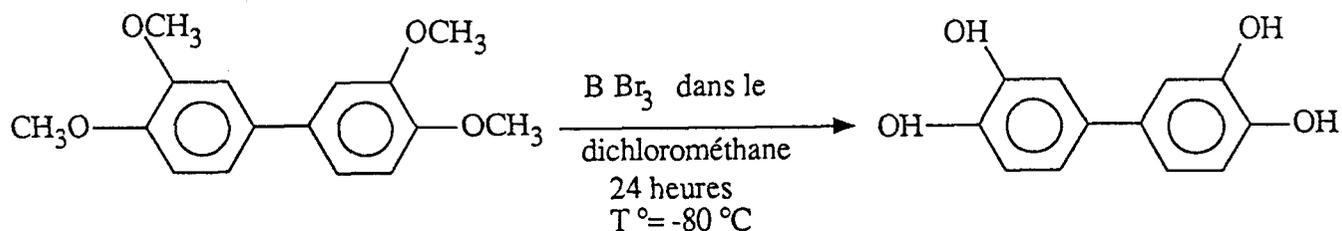
- de l'acide 4,5-diméthoxybenzoïque (27a):



- de l'acide 3,4-diméthoxybenzoïque (27a):



- du 3,4,3',4'-tétraméthoxybiphényle (27a):

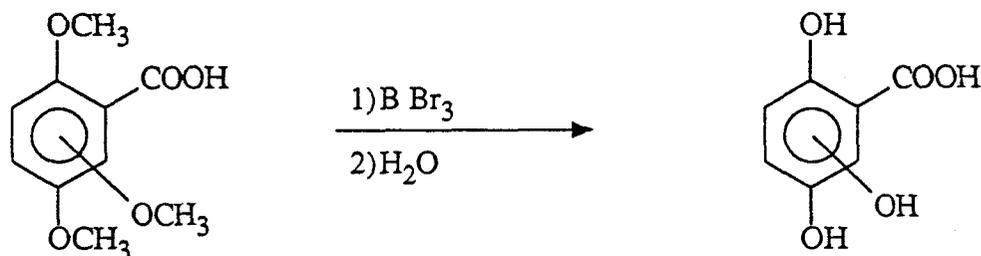


En comparant les propriétés clivantes de BBr_3 et BI_3 , Lasinger et Ronald ont remarqué que BBr_3 réagissait avec la fonction aldéhyde pour donner des dihalogénures vicinaux (28).

Il est à noter que le trichlorure de Bore (BCl_3) est un réactif puissant mais sélectif pour la déméthylation des groupes méthoxy situés en ortho d'un groupement carbonyle (29).

2- Application à nos composés :

L'utilisation de BBr_3 pour obtenir les différents acides désirés s'est imposée ; d'une part parce que cette méthode de clivage semble être la mieux adaptée à nos composés, d'autre part parce qu'elle est très propre.



La manipulation se fait à une température de $-70^\circ C$. Une solution du composé triméthoxylé dans du dichlorométhane anhydre est ajoutée, goutte à goutte, à la solution de BBr_3 dans le même solvant. La littérature nous dit qu'un équivalent de BBr_3 est nécessaire pour chaque groupement méthoxy à cliver plus un équivalent pour la fonction $COOH$; ce qui nous fait quatre équivalents. Pour les clivages des acides 2,3,6 et 2,4,5- triméthoxybenzoïques, il faut environ de quatre équivalents pour obtenir des rendements acceptables alors que pour l'acide 2,3,5-trihydroxybenzoïque, il en faut 40. Le tableau 5 indique les rendements et le nombre d'équivalents de BBr_3 pour chaque composé.

Composé	Rendement (%)	Nombre d'équivalents de BBr ₃
2,3,6- ATHB	60	4,5
2,4,5- ATHB	60	4,0
2,3,5- ATHB	77	40,0

ATHB : acide trihydroxybenzoïque

Tableau 8

IV-ELECTROCHIMIE COUPLEE A LA R.P.E. : ETUDE DES ACIDES TRIHYDROXYBENZOÏQUES

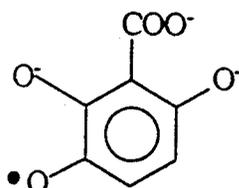
Les différents acides trihydroxybenzoïques ont été étudiés en voltammétrie cyclique. Les pics obtenus sont très larges donc peu exploitables. Comme des signaux apparaissent en oxydation, l'électrolyse de ces composés a pu être envisagée.

Les phénomènes observés en RPE lors de l'électrolyse à intensité contrôlée des acides trihydroxybenzoïques sont assez complexes. De plus, les différents pK_a qui ont, comme nous l'avons vu pour l'acide gentisique, une grande importance ne sont pas connus ici.

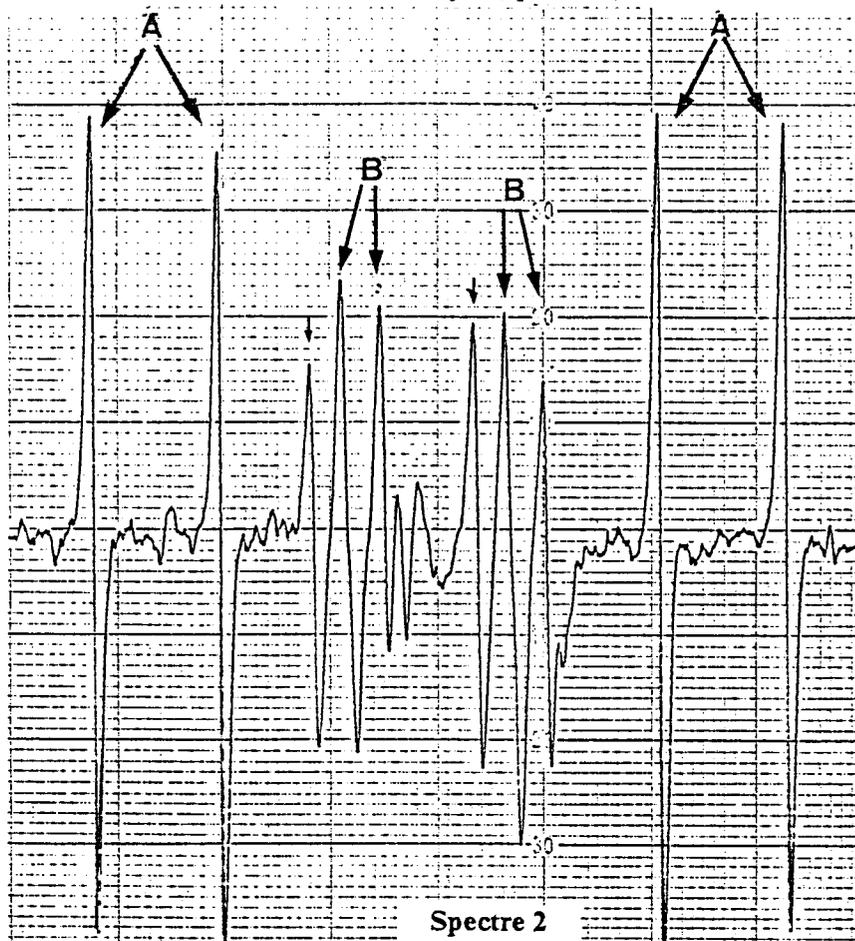
A- L'acide 2,3,6-trihydroxybenzoïque

L'étude à pH acide et pH égal à 12 ne nous a donné aucun renseignement : aucun radical n'est observé dans les deux cas.

Par contre, à pH très basique (13,7), un spectre RPE est obtenu. Le premier radical formé au cours de l'électrolyse, est un double doublet (A) de constantes de couplage : 1,20 gauss et 5,35 gauss. Il faut préciser que le double doublet A est identique au dd_1 détecté lors de l'étude électrochimique de l'acide gentisique. Il semble logique que la structure de ce dernier soit le radical primaire de l'acide 2,3,6-trihydroxybenzoïque c'est-à-dire :



Les calculs théoriques nous indiqueront que cette hypothèse est correcte. D'autres radicaux se forment ensuite au cours de l'électrolyse (spectre 2).



- * un double doublet de constantes de couplage (B) : 0,30 gauss et 1,51 gauss
- * un doublet de constante de couplage : 1,52 gauss

En comparant les spectres 1 (page 34) et 2, on remarque que ces trois signaux (les deux doubles doublets et le doublet) sont présents dans les deux spectres. De ceci, plusieurs conclusions peuvent être tirées :

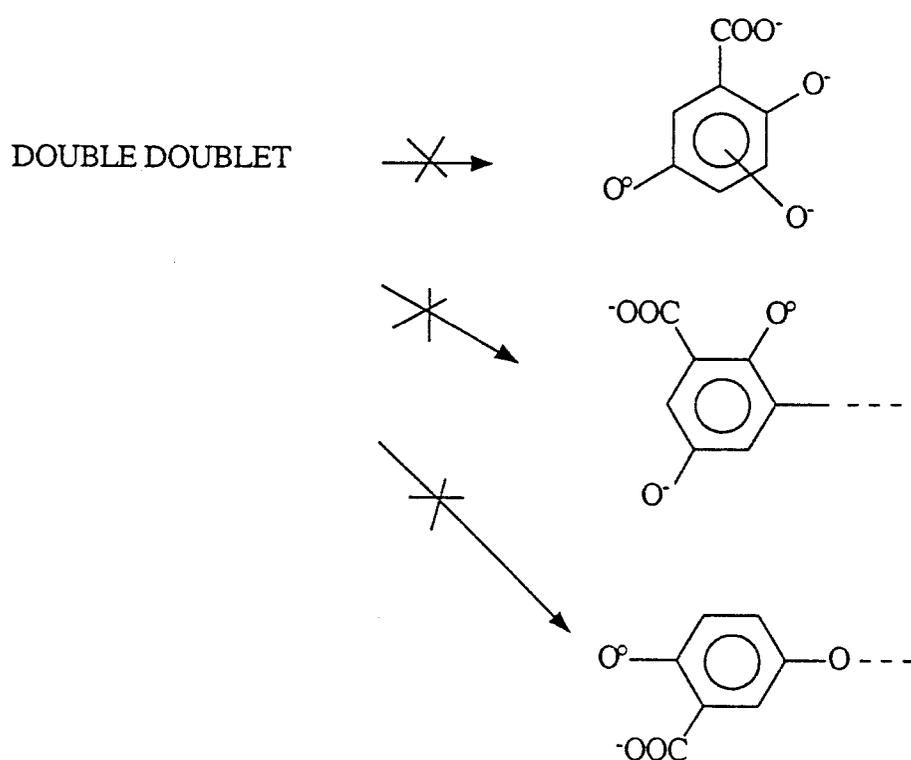
1- Le double doublet B (constantes égales à 0,30 et 1,51 gauss)

Lors de l'électrolyse de l'acide gentisique, nous avons suggéré que ce double doublet (dd_2) pouvait provenir :

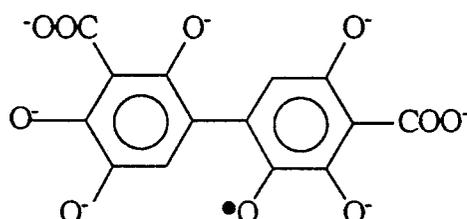
- soit d'un acide trihydroxybenzoïque
- soit d'un dimère

Comme il est également observé à partir de l'acide 2,3,6-trihydroxybenzoïque, la première hypothèse doit être écartée. Le double doublet B ou dd_2 vient sûrement de l'évolution du radical primaire de l'acide 2,3,6-trihydroxybenzoïque. Il provient vraisemblablement de la formation d'un dimère.

Dans le tableau 7 (page 45) où sont représentées les différentes structures possibles de dimères, les radicaux dans lesquels apparaît le squelette de l'acide gentisique peuvent être éliminés. Seuls les dimères formés au départ de l'acide 2,3,6-trihydroxybenzoïque peuvent être présents dans le milieu réactionnel.



Il en résulte que le seul radical pouvant donner naissance au double doublet (B ou dd₂) commun aux électrolyses de l'acide gentisique et de l'acide 2,3,6-trihydroxybenzoïque est le dimère non symétrique et plan :



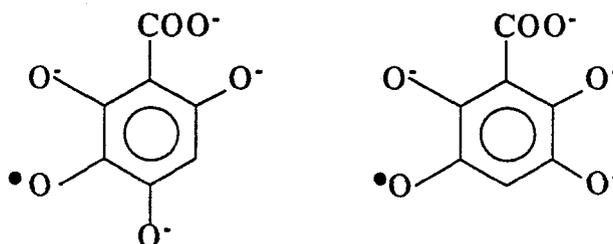
Ceci sera vérifié par les calculs.

2- Le doublet

Comme dans le cas précédent, deux types de structures peuvent être proposées:

- soit un acide tétrahydroxybenzoïque
- soit un dimère

Deux acides tétrahydroxybenzoïques sont possibles :

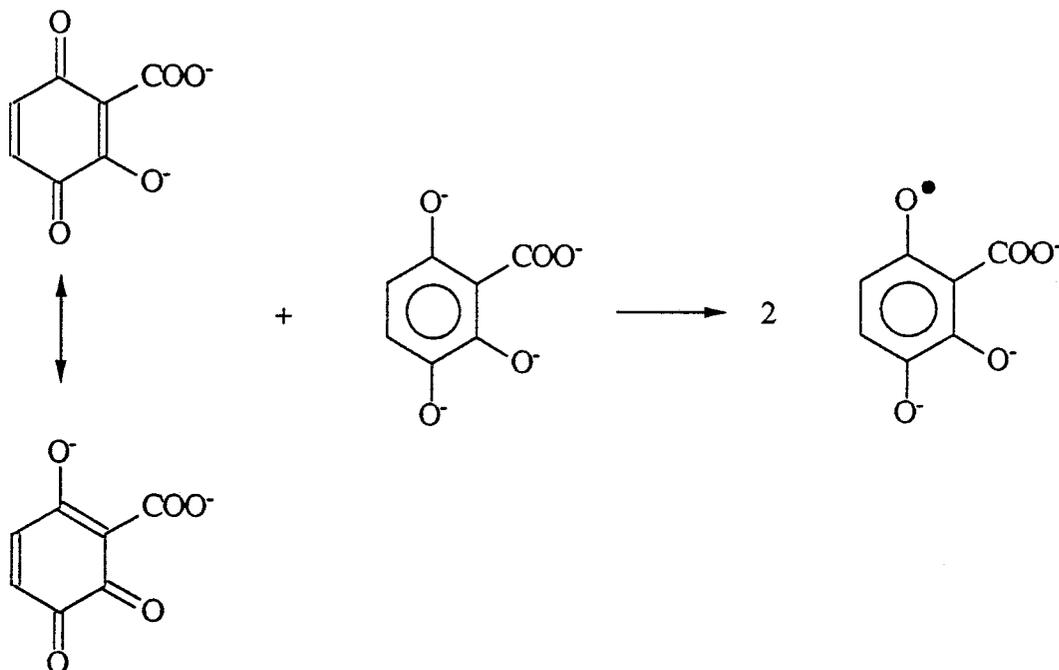
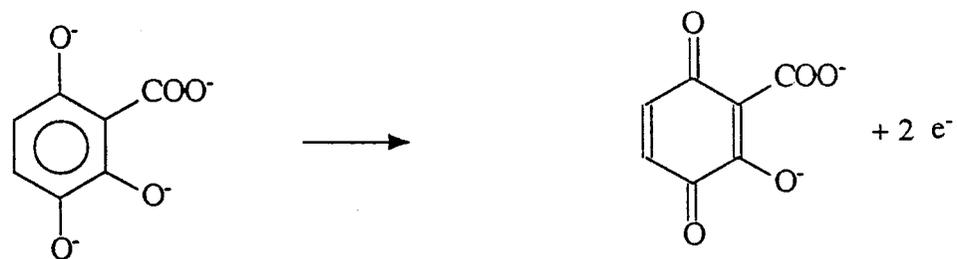


En ce qui concerne les dimères, la remarque faite dans le cas du double doublet reste valable à savoir que les dimères radicalaires possédant le motif de l'acide gentisique ne peuvent être considérés.

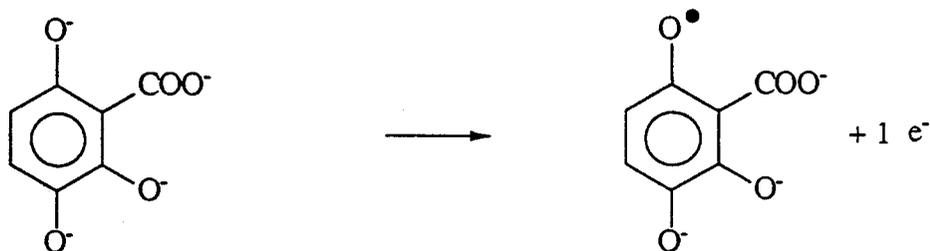
3- Le double doublet A

Le radical primaire de l'acide trihydroxybenzoïque est observé pendant l'électrolyse contrairement à celui de l'acide gentisique et ceci à un pH identique. Deux mécanismes peuvent être proposés.

a- le transfert électronique serait biélectronique et une réaction d'amphotérisation consécutive permettrait l'obtention d'un tel radical,



b- le transfert électronique serait monoélectronique.



Dans les deux cas, une dimérisation serait l'étape suivante.

B- L'ACIDE 2,3,5-TRIHYDROXYBENZOÏQUE ET L'ACIDE 2,4,5-TRIHYDROXYBENZOÏQUE

Pour un pH compris entre 0 et 12, aucun signal n'apparaît quelque soit l'acide trihydroxybenzoïque étudié. Un pH très basique (13,7) permet l'obtention d'un signal RPE. Lors de l'étude de l'acide 2,3,5-trihydroxybenzoïque, un double doublet est observé ; ses constantes de couplage sont les suivantes : 0,70 gauss et 4,75 gauss. Lorsque nous travaillons avec l'acide 2,4,5-trihydroxybenzoïque, un seul double doublet de constantes de couplage égales à 1,55 gauss et 0,45 gauss est formé. Ces deux doubles doublets pourraient être les radicaux primaires des acides étudiés (ceci sera confirmé plus tard par les calculs théoriques).

En conclusion, nous avons mis en évidence les trois radicaux primaires des acides trihydroxybenzoïques dérivés de l'acide gentisique.

Voici résumées en tableau les différentes constantes de couplage de ces trois acides :

Acides	Constantes de couplage (en gauss)	
	2,3,6- ATHB	1,20
2,3,5- ATHB	0,70	4,75
2,4,5- ATHB	0,45	1,55

ATHB : acide trihydroxybenzoïque

Tableau 9

Les calculs théoriques nous permettront d'attribuer à chacune de ces constantes une position exacte sur le cycle.

V- LES CALCULS DE CONSTANTES DE COUPLAGE

Les calculs théoriques nous ont servi d'une part à vérifier certaines de nos hypothèses en ce qui concerne les radicaux inconnus et d'autre part à attribuer une position bien définie aux constantes de couplage trouvées lors de l'expérience.

Deux types de calculs ont été réalisées : les calculs Mac Lachlan et les calculs INDO. Des éléments de base de mécanique quantique sont rappelés en annexe I. Nous indiquerons ci-après les principales caractéristiques des deux méthodes de calcul employées.

Méthodes de calculs :

1- Les calculs Mac Lachlan

Il s'agit d'une évolution de la méthode de Hückel. La méthode de Hückel ne tient pas compte de l'influence de l'électron célibataire du radical sur les spins des autres électrons. Mac Lachlan (30) base sa méthode sur l'attribution d'orbitales différentes à des électrons de spin différent.

L'intégrale de Coulomb α_0 (ou J en annexe I) pour chaque atome r est modifiée. Un incrément égal à $\Delta\alpha_r = 2 \lambda \cdot C^2_{0r} \cdot \beta_{0y}$ est ajouté. La valeur C^2_{0r} représente la densité d'électron non apparié sur l'atome r. Elle est calculée par la méthode de Hückel.

λ est déterminé théoriquement et est égal à 1,2.

β_0 est l'intégrale de résonance (ou d'échange) (représentée par K en annexe I).

Les nouvelles intégrales de Coulomb permettent de calculer un nouvel ensemble d'orbitales auxquelles sont assignés les électrons ayant le même spin que l'électron non apparié.

Les densités de spin sur les différents atomes r sont alors calculées par la relation :

$$\rho_r = C^2_{0r} + \sum_n (C'^2_{nr} - C^2_{nr})$$

avec : C_{nr} = coefficient de la nième orbitale atomique dans la nième orbitale moléculaire

C'_{nr} = nouveau coefficient calculé à partir des intégrales de Coulomb modifiées α_r

On tient compte de toutes les orbitales moléculaires occupées sauf de celle contenant l'électron non apparié.

Si le composé étudié comporte un hétéroatome dans son squelette aromatique, les intégrales de Coulomb et de résonance concernant cet atome sont modifiées et deviennent :

$$\alpha_X = \alpha_0 + h_X \beta_0$$

$$\beta_{C-X} = k_{C-X} \cdot \beta_0$$

Notons que β_0 est une valeur standard pour la liaison carbone-carbone du benzène (1,397A).

Lorsqu'un radical, issu d'un composé aromatique porte différents substituants, il est important de tenir compte de l'influence de ceux-ci. La littérature présente différents modèles de calcul : le modèle d'hyperconjugaison (31), le modèle hétéroatomique (32) et le modèle inductif.

C'est ce dernier modèle que nous avons utilisé car il semblait être le plus adapté à nos composés.

Dans leur traitement original de la substitution aromatique, Wheland et Pauling (33) ont trouvé nécessaire d'inclure un effet inductif dû à l'hétéroatome attaché à un carbone. L'atome le plus

électronégatif polarise la liaison σ et diminue l'électronégativité effective du carbone substitué. Cet effet est composé en assignant au carbone substitué une valeur h_a , qui est une fraction donnée de la valeur h de l'hétéroatome associé.

Ainsi pour un groupe de type C_a-X

$$h_{C_a} = \delta \cdot h_X$$

Précisons que δ est positif lorsque le substituant est un capteur d'électrons et qu'il est négatif dans le cas des donneurs d'électrons.

Afin d'ajuster les paramètres h et k pour l'oxygène, nous avons testé la méthode sur le radical semi-quinonique du 1,4-dihydroxybenzène et celui du 1,2,4-trihydroxybenzène.

Les valeurs $h = 1,2$ et $k = 1,56$ avec $\delta = 1,2$ se sont avérées satisfaisantes. Nous avons choisi la constante de Mc Connell : $Q = -22$ gauss.

	Valeurs calculées	Valeurs expérimentales
	$a = -2,37$ gauss	$(34,35,12)$ $2,35$ gauss
	$a_3 = 0,86$ gauss $a_5 = -5,35$ gauss $a_6 = -2,17$ gauss	$(36,37)$ $0,65$ gauss $4,90$ gauss $1,37$ gauss
	$a_3 = -2,53$ gauss $a_5 = -2,19$ gauss $a_6 = -2,30$ gauss	$(*)$ (5) $2,60$ gauss $2,06$ gauss $2,30$ gauss

(*) Le modèle inductif a été choisi : $\delta = 0,05$

Les paramètres h et k sont égaux à 1,2 et 1,56 respectivement.

Les attributions de la littérature (5) ont été faites sans confirmation théorique.

Tableau 10

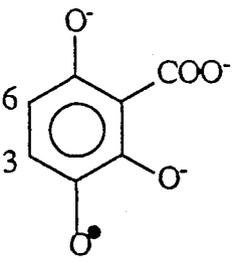
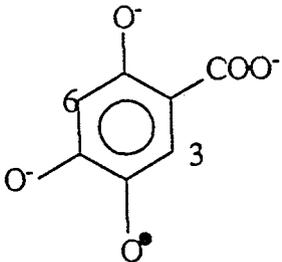
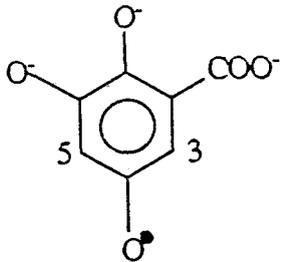
	Valeurs calculées	Valeurs expérimentales
	$a_5 = 2,17 \text{ gauss}$ $a_6 = 5,35 \text{ gauss}$	1,20 gauss 5,35 gauss
	$a_3 = 2,51 \text{ gauss}$ $a_6 = -0,86 \text{ gauss}$	1,55 gauss 0,45 gauss
	$a_3 = 5,69 \text{ gauss}$ $a_5 = -0,85 \text{ gauss}$	4,75 gauss 0,70 gauss

Tableau 11

Les calculs de Mac Lachlan semblent appropriés à nos composés. Cette méthode va donc être appliquée à des produits qui pourraient s'être formés lors des électrolyses de l'acide gentisique et des différents acides trihydroxybenzoïques ; c'est-à-dire les acides tétrahydroxybenzoïques et les différents dimères.

a- Les acides tétrahydroxybenzoïques

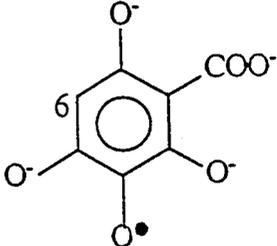
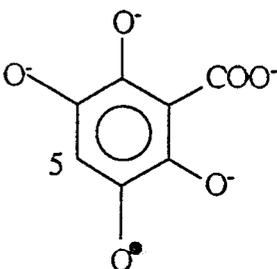
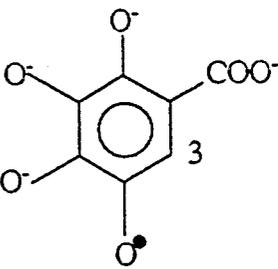
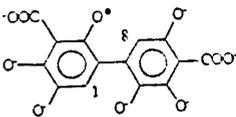
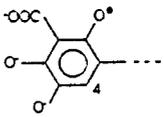
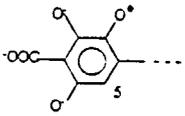
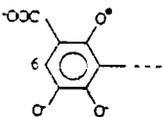
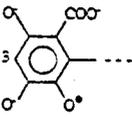
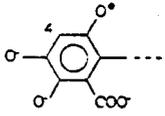
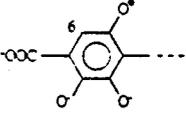
	Valeurs calculées
	$a_6 = -0,40$ gauss
	$a_5 = -1,17$ gauss
	$a_3 = -2,87$ gauss

Tableau 12

b- Les différents dimères :

Les différents dimères que nous avons considérés sont :

- un dimère non symétrique et plan : dimère n°7
- six dimères non plans : dimères n°1 à n°6
- les dimères provenant d'un couplage par un oxygène du cycle aromatique.

	Valeurs calculées
 <p>(*) dimère n°7</p>	$a_1 = 0,69$ gauss $a_8 = -0,11$ gauss
 <p>(**) dimère n°1</p>	$a_4 = -1,72$ gauss
 <p>(**) dimère n°2</p>	$a_5 = -4,88$ gauss
 <p>(**) dimère n°3</p>	$a_6 = -2,51$ gauss
 <p>(**) dimère n°4</p>	$a_3 = 0,86$ gauss
 <p>(**) dimère n°5</p>	$a_4 = 0,85$ gauss
 <p>(**) dimère n°6</p>	$a_6 = -5,69$ gauss

(*) dimère symétrique mais plan

(**) $\delta = -0.07$ pour le groupement aromatique

$\delta = 0.05$ pour le groupement COO^-

Tableau 13

Les valeurs calculées du dimère n°7 sont du même ordre de grandeur que celles trouvées expérimentalement lors des électrolyses des acides gentisique et 2,3,6-trihydroxybenzoïque ($a_1 = 1,50$ gauss et $a_8 = 0,35$ gauss).

Notons également que trois doublets ont été mis en évidence lors de l'électrolyse de l'acide gentisique :

$$d_1 : a = 4,70 \text{ gauss}$$

$$d_2 : a = 3,32 \text{ gauss}$$

$$d_3 : a = 1,52 \text{ gauss}$$

Nous pouvons donc penser que le doublet d_3 a la structure du dimère n°1 et que le doublet d_1 a celle du dimère n°2.

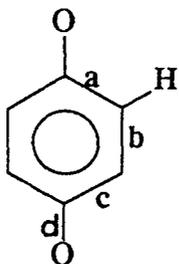
Dans le cas des dimères venant d'un couplage par un oxygène du cycle aromatique, on peut considérer que les constantes de couplage obtenues seront peu différentes de celles des acides trihydroxybenzoïques.

Les calculs Mac Lachlan donnent des résultats satisfaisants mais empiriques. Nous avons donc essayé une méthode plus élaborée, semi-empirique : la méthode INDO.

2- La méthode INDO (38)

La méthode INDO nécessite de connaître la géométrie du composé à étudier. Des composés simples ont d'abord été étudiés, ce qui nous a permis de fixer ainsi les longueurs et les angles de liaisons du cycle.

Les paramètres géométriques de la 1,4-benzosemiquinone sont les suivants :



	Longueurs (Å)	Angles (°)
C-H	1,08	-
a	1,49	-
b	1,32	-
c	1,49	-
d	1,23	-
cd	-	116
ab	-	120
Valeur calculée	Valeur expérimentale	
1,73 gauss	2,35 gauss (5)(34)(35)	

Tableau 14

Les valeurs des constantes de couplage étant satisfaisantes, nous avons étudié la 4-oxido-1,2-benzosemiquinone en gardant les mêmes paramètres géométriques.

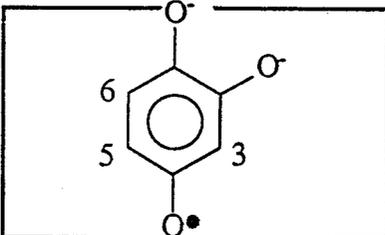
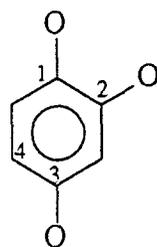
	Valeurs calculées	Valeurs expérimentales
	$a_3 = 0,36$ gauss $a_5 = 0,80$ gauss $a_6 = 1,98$ gauss	0,65 gauss 4,90 gauss 1,37 gauss

Tableau 15

Les valeurs obtenues étant très médiocres, nous avons essayé de modifier les paramètres géométriques.



Liaisons (en Å)			Angles (en degrés)				Constantes de couplage (en gauss)		
C-O	C-C	C-H	1	2	3	4	a ₃	a ₅	a ₆
1,32	1,46	1,08	120	120	120	120	2,05	3,05	1,84
1,32	1,46	1,08	121,5	119,25	117	121,5	1,99	-3,04	-1,69
1,32	1,46	1,08	125	117,5	110	125	1,75	-3,17	-1,25

Tableau 16

Le tableau 16 reprend les valeurs de longueurs et d'angles de liaisons que nous avons essayé d'ajuster en vue d'obtenir de meilleures constantes de couplage. Celles-ci s'avèrent être très éloignées des constantes de couplage obtenues lors de l'expérimentation (voir tableau 15).

Malgré cela, des calculs INDO ont été tentés sur l'acide gentisique en utilisant des longueurs de liaisons et des angles standards proposés par Pople et Beveridge (38). Nous n'avons pas obtenu de convergence. La méthode INDO s'est donc avérée inapplicable à des composés de types hydroquinones aromatiques (38).

VI- CONCLUSIONS

Les résultats exposés dans ce chapitre nous ont permis de dégager un certain nombre de conclusions.

- Conclusions concernant la voltammétrie cyclique :

Nous avons étudié l'acide gentisique et ses dérivés en voltammétrie cyclique pour déterminer leur potentiel d'oxydation. En effet, ces derniers sont nécessaires pour faire des électrolyses à potentiel contrôlé. Mais, nous n'avons pas pu utiliser ces renseignements puisque la géométrie de la cellule ne se prêtait pas à ce genre d'étude.

Par contre, l'étude de l'acide gentisique en voltammétrie cyclique nous a permis de mettre en évidence l'importance du pH.

1) Quand le pH est très basique, le nombre de réactions couplées et/ou leur vitesse augmentent.

2) Un pH égal à 12 permet l'obtention d'un seul composé qui semble être l'acide 2,3,6-trihydroxybenzoïque. Mais l'étude voltamétrique de ce dernier ne nous permet pas de confirmer cette hypothèse.

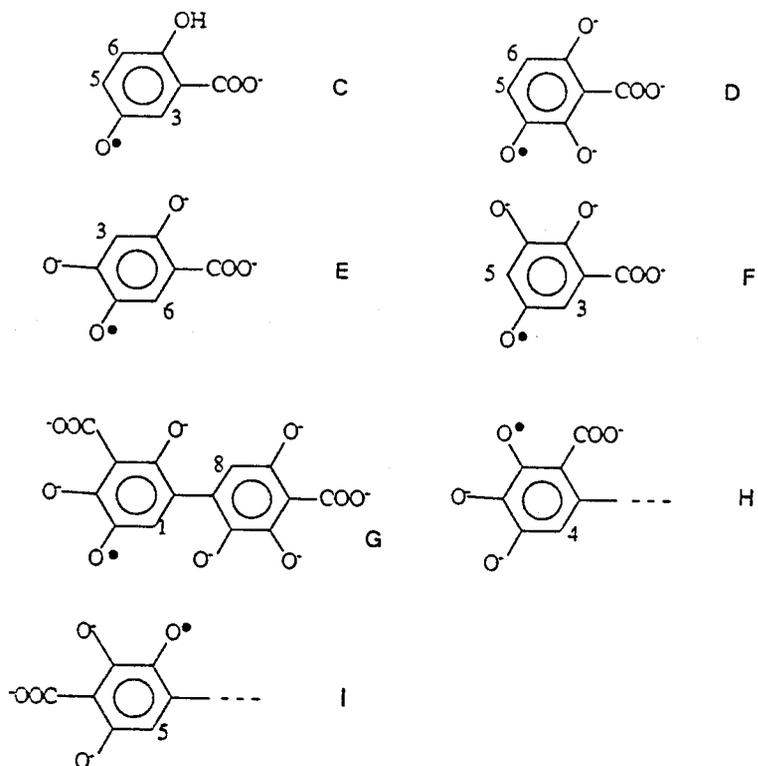
3) A pH acide, un autre composé est formé. Ce dernier pourrait être un dimère.

- Importance du pH sur l'oxydation de l'acide gentisique :

Lors de l'électrolyse de ce dernier, un pH inférieur à son dernier pK_a (pK_{a3}) permet l'apparition d'un des radicaux primaires ; alors qu'un pH très basique favorisera la formation de composés substitués ou de dimères.

- Identification d'un certain nombre de radicaux :

Les radicaux suivants ont pu être caractérisés.



Radicaux	Constantes expérimentales						Constantes calculées (en gauss)					
	(en gauss)											
	a ₁	a ₃	a ₄	a ₅	a ₆	a ₈	a ₁	a ₃	a ₄	a ₅	a ₆	a ₈
C	-	2,62	-	2,25	2,02	-	-	-	-	-	-	-
D	-	-	-	1,20	5,35	-	-	-	-	-2,17	-5,35	-
E	-	1,55	-	-	0,45	-	-	-2,51	-	-	0,86	-
F	-	4,75	-	0,70	-	-	-	-5,69	-	0,85	-	-
G	1,50	-	-	-	-	0,35	0,69	-	-	-	-	0,112
H	-	-	1,52	-	-	-	-	-	-1,72	-	-	-
I	-	-	-	4,70	-	-	-	-	-	-4,88	-	-

Tableau 17

Ces premiers résultats seront utilisés dans l'étude de l'autoxydation de l'acide gentisique.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES :
Première partie

- 1 **Bard A.J. et Faulkner L.R.**
Electrochimie : Principes, Méthodes et Applications
Ed. Masson 1983

- 2 **Testa A.C. and Reintmuth W.H.**
Anal. Chem., 1961, 33, 1320

- 3 **Lajunen L.H.J., Saarinen J. and Parchi S.**
Talanta, 1980, 27, 71

- 4 **March J.**
Advanced Organic Chemistry : Reactions, Mechanisms and Structure
Ed. Mac Graw-Hill, 3th Edition 1985

- 5 **Dixon W.T., Moghimie M. and Murphy D.**
J. Chem. Soc. Faraday Trans II, 1974, 70, 1713

- 6 **Papadouchado L., Petrie G., Sharp J.H. and Adams R.N.**
J. Am. Chem. Soc. , 1968, 90, 20, 5620

- 7 **Taylor W.I. and Battersby A.R.**
Oxydative Coupling of Phenols
Ed. Edward Arnold and Marcel Dekker 1967

- 8 **Fleming I.**
Frontier Orbitals and Organic Chemical Reactions
Ed. Wiley and Sons 1976

- 9 **Kharasch M.S. and Joshi B.S.**
J. Org. Chem., 1957, 22, 1439

- 10 **Ley K., Mueller E., Mayer R. und Scheffeler K.**
Ber. , 1958, 91, 2670
- 11 **Ye M. and Schuler R.H.**
J. Phys. Chem., 1989, 93, 1898
- 12 **Ashworth P. and Dixon W.T.**
J. Chem. Soc. Perkin Trans II, 1972, 1130
- 13 **Reitz D.C., Hollahan J.R., Dravnieks F. and Wertz J.E.**
J.Chem. Phys., 1961, 34, 1457
- 14 **Gilman H. and Thirtle J.R.**
J. Am. Chem. Soc., 1944, 66, 858
- 15 **Finnegan R.A. and Altschuld J.W.**
J. Organomet. Chem., 1967, 9, 193
- 16 inspiré de : **Vogel's**
Textbook of Practical Organic Chemistry
Ed. Longman, 4 th Edition 1978 (page 834)
- 17 **Dorn H.W., Warren W.H. and Bullock J.L.**
J. Am. Chem. Soc., 1939, 61, 144
- 18 **Kreuchunas A.**
J. Org. Chem., 1956, 21, 910
- 19 **Sanchez I.H., Larraza M.I., Basurto F., Yaney R., Avita S., Tovar R. and Joseph-Nathan P.**
Tetrahedron, 1985, 41, 12, 2355
- 20 **Rizzacasa M. A. and Sargent M.V.**
J. Chem. Soc. Perkin Trans I, 1988, 8, 2425
- 21 **Vogel's**
Textbook of Practical Organic Chemistry
Ed. Longman, 4th Edition 1978 (page 755)

22 Par exemple:

Reese C. B. and Haslam E.

Protective Groups in Organic Chemistry

Ed. Plenum Press 1973

23 **Gigg R.**

J. Chem. Soc. Perkin Trans I, 1980, 738

24 **Sala T. and Sargent M. V.**

J. Chem. Soc. Perkin Trans I, 1979, 2593

25 **Benton F. L. and Dillon T.E.**

J. Am. Chem. Soc., 1942, 64, 1128

26 **Mac Omie J. F. W. and Watts M. L.**

Chem. Ind. (London), 1963, 1658

27 a. **Mac Omie J. F. W., Watts M. L. and West D. E.**

Tetrahedron, 1968, 24, 2289

b. **Blatchly J. M., Gardner D. V., Mac Omie J. F. W. and Watts M. L.**

J. Chem. Soc. C, 1968, 1545

c. **Mac Omie J. F. W. and West D. E.**

Org. Synth. Coll. Vol V, 1973, 412

28 **Lansinger J. M. and Ronald R. C.**

Synth. Commun., 1979, 9, 341

29 **Dean F. M., Goodchild J., Houghton L. E., Martin J. A., Morton R.B., Parton B.,**

Price A. W. and Nongyou Somvichien

Tetrahedron Letters, 1966, 4153

30 **Mac Lachlan A. D.**

Mol. Phys., 1960, 3, 233

31 **Coulson C. A.**

Quant. Revs., 1947, 1, 144

- 32 **Matsen F. A.**
J. Am. Chem. Soc., 1950, 72, 5243
- 33 **Wheland G. W. and Pauling L.**
J. Am. Chem. Soc., 1935, 57, 2086
- 34 **Oakes J. and Symons M. C. R.**
Trans Faraday Soc., 1968, 64, 2579
- 35 **Pedersen J. A.**
Mol. Phys., 1974, 28, 1031
- 36 **Pedersen J. A.**
J. Chem. Soc. Perkin Trans II, 1973, 424
- 37 **Stone T. J. and Waters W. A.**
J. Chem. Soc., 1965, 1488
- 38 **Pople J. A. and Beveridge D. L.**
Approximative Molecular Orbital Theory
Ed. Mac Graw-Hill 1970

DEUXIEME PARTIE

Toutes les expériences d'oxydation décrites dans le chapitre précédent ont été réalisées par voie électrochimique, en absence totale de dioxygène. Dans la deuxième partie de notre travail, nous allons étudier la réactivité de l'acide gentisique vis-à-vis du dioxygène dans un double but:

- caractériser les produits d'autoxydation formés: les motivations de cette étude ont été largement discutées dans notre introduction générale,
- apporter une contribution au mécanisme de synthèse d'un modèle d'acide humique développé par M. Imbenotte et coll.(1) à partir de l'acide gentisique.

I- LES SUBSTANCES HUMIQUES

Le terme "substances humiques" se réfère au matériel organique, présent dans l'environnement, qui résulte de la décomposition de résidus d' animaux et de plantes. Ce ne sont ni des protéines, ni des polysaccharides, ni des polynucléotides.

Les substances humiques sont ubiquistes puisqu'elles sont présentes dans les sols, les sédiments et les eaux. Bien que ces composés soient connus comme provenant de la dégradation des tissus biologiques, leur mode de formation n'a pas encore été élucidé. De nombreux essais de fractionnement ont permis à diminuer le degré d'hétérogénéité des échantillons sans pour autant isoler un matériel qui pourrait être une substance humique pure.

Les substances humiques ne se trouvent pas seules dans l'environnement. Elles sont mélangées ou associées, chimiquement ou physiquement, à d'autres classes de matériaux. Par exemple, à l'état dissous dans le milieu aquatique, elles sont mélangées à des acides aminés, des acides aliphatiques ou aromatiques, des sucres et beaucoup d'autres composés organiques. Dans les sols ou en suspension dans les systèmes aquatiques, elles sont fréquemment liées à des composés minéraux.

A- Isolation des substances humiques

Les substances humiques sont constituées d'acides humiques et d'acides fulviques que l'on peut isoler par extraction. Ces techniques d'extraction sont nombreuses.

1- A partir des substrats solides

L'échantillon solide est mélangé à une solution de soude. Après centrifugation, le surnageant alcalin contient les acides humiques et fulviques sous forme de sels. Cette solution est décantée et acidifiée. Les acides humiques précipitent et les acides fulviques restent en solution.

Le résidu insoluble restant après l'extraction alcaline contient l'humine généralement mélangée à des matières minérales insolubles ou à des restes de fibres de plantes (2) (3).

2- A partir des substances aqueuses

L'eau est acidifiée à pH=2 puis passée sur une colonne contenant une résine hydrophobe. Les substances humiques sont retenues par la colonne alors que les matériaux non humiques et hydrophiles passent au travers de la colonne. Une élution à pH=7 permet d'enlever les acides fulviques et une seconde élution avec de la soude détache les acides humiques. Les sels sont alors reconvertis en acides (fulviques et humiques) par passage sur une colonne échangeuse de cations H^+ (4) (5).

B- Effets des substances humiques sur l'environnement

La présence des substances humiques dans l'environnement peut avoir des conséquences bénéfiques ou nuisibles. Les substances humiques sont vitales pour maintenir la structure des sols, pour prolonger la présence d'eau dans les sols, pour garder les éléments micronutritifs nécessaires à la croissance des plantes.

Elles peuvent influencer les transports des métaux et l'état d'oxydo-réduction des ions métalliques et d'autres espèces. Les substances humiques interagissent avec les ions métalliques par complexation et par des mécanismes d'échanges d'ions. Selon les circonstances, cette interaction conduit à la solubilisation ou à l'immobilisation du métal.

La présence des substances humiques dans une eau est indésirable pour un grand nombre de raisons. Des problèmes majeurs résultent du fait que les substances humiques:

- 1° produisent des colorations indésirables de l'eau,
- 2° servent de précurseur aux trihalométhanes durant le processus de chloration,
- 3° stabilisent les particules dispersées et colloïdales durant les processus de coagulation,
- 4° conduisent à la formation de composés organiques biodégradables durant l'ozonolyse et accroissent ainsi la naissance des microorganismes à l'intérieur des systèmes de distribution d'eau, et,
- 5° peuvent précipiter dans les systèmes de distribution d'eau.

C- Composition des substances humiques

Les substances humiques ont des compositions différentes selon leur origine et la méthode d'extraction utilisée.

90% des substances humiques dissoutes dans les eaux sont des acides fulviques; les 10% restant sont des acides humiques. Cette composition est inversée dans les substances humiques venant du sol (6).

Les acides humiques aquatiques diffèrent des acides fulviques aquatiques dans leur composition élémentaire, leur poids moléculaire et d'autres caractéristiques (tableau 18).

Echantillons	C (%)	H (%)	O (%)	N (%)	S (%)	P (%)	Total	Cendres (%)
Ohio River acide fulvique dissous	55,03	5,24	36,08	1,42	2,00	0,34	100,35	0,38
Ohio River acide humique dissous	54,99	4,84	33,64	2,24	1,51	0,06	98,75	1,49
Sanhedron Al acide fulvique terrestre	48,71	4,36	43,35	2,77	0,81	0,56	100,59	2,25
Sanhedron Al acide humique terrestre	58,03	3,64	33,59	3,26	0,47	0,10	99,09	1,19

Compositions élémentaires de substances humiques aquatiques et terrestres (7)

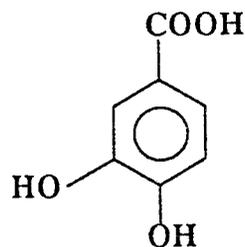
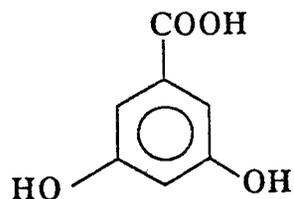
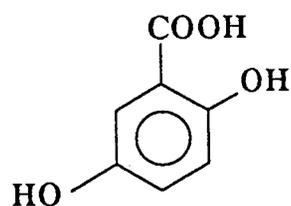
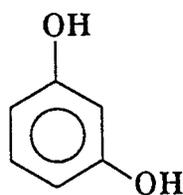
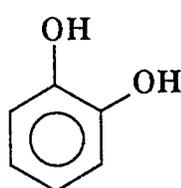
Tableau 18

Les acides humiques possèdent des groupements carboxyles, phénoliques et alcooliques. Les poids moléculaires des acides fulviques aquatiques sont de 800 à 1000 daltons et ceux des acides humiques aquatiques de 2000 à 3000 daltons. Par contre, les poids moléculaires des acides humiques extraits du sol sont de l'ordre de 10^5 daltons (6).

Comme les substances humiques proviennent d'horizons différents, il est impossible de donner une composition ou une formule unique aux substances humiques aquatiques. De

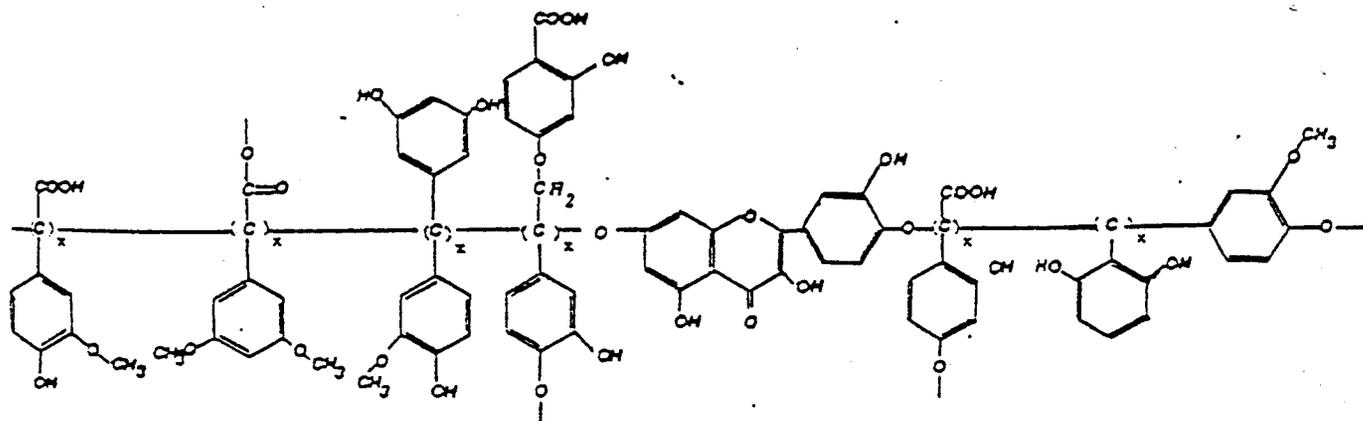
nombreuses structures ont été proposées comme pouvant être formées au départ de polyphénols ou d'acides dicarboxyliques (8).

Un nombre important de composés hautement oxygénés ont été identifiés, tels que le catéchol, le réSORCINOL, l'acide gentisique, l'acide 3,5-dihydroxybenzoïque et l'acide 3,4-dihydroxybenzoïque.

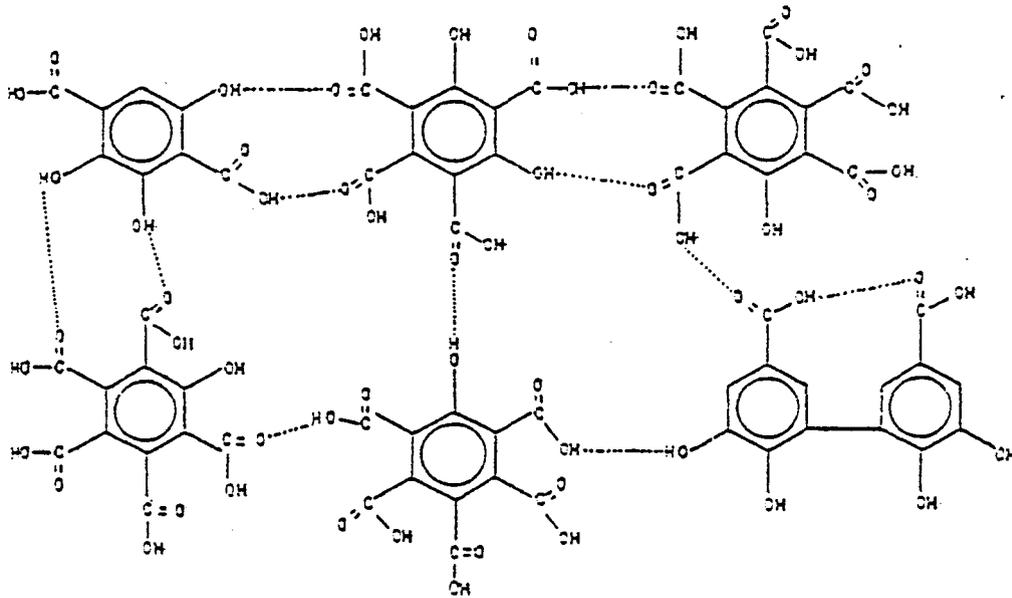


La présence de ces structures dans la macromolécule originale humique a été suggérée par de nombreux auteurs. Ainsi, les structures de:

* Christian et Ghassemi (4)



*Schnitzer et Khan (8b)



Ces différentes hypothèses ont conduit à élaborer un modèle d'acide humique par polycondensation de composés ayant une structure quinonique. Ainsi, Cornec et Brusset (4) ont travaillé avec l'hydroquinone. Elle est oxydée par le persulfate de sodium pour conduire à la formation d'un produit de couleur noire.

Ebenga (10) a défini un procédé de synthèse en respectant les impératifs structuraux des substances humiques naturelles. Il procède aussi à partir d'hydroquinone. La polycondensation est réalisée en milieu basique (solution de soude) en présence de sulfate ferreux et de persulfate de sodium. Une solution brune est obtenue. Une dialyse permet l'élimination des ions sodium. Le résidu obtenu par lyophilisation a été analysé selon certaines méthodes (IR, UV, pHmétrie, ...).

Comme ce modèle n'est pas suffisamment représentatif des substances humiques naturelles (tant au plan structural qu'à celui des propriétés complexantes), les auteurs ont tenté la mise au point d'un autre modèle à partir de l'acide gentisique. En effet, il semble que le métal lié à la matrice de l'acide humique implique la participation d'unités polyhydroxybenzoates (8b).

L'acide gentisique permet l'introduction d'un groupement acide tout en gardant une structure quinonique. L'oxydant est toujours le mélange sulfate ferreux / persulfate de sodium ($\text{Fe}^{2+}/\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$) et le milieu est toujours basique. La température est, dans ce cas, égale à 80°C . Du 3,5-ditertiobutyl-4-hydroxytoluène (BHT) est ajouté afin de limiter la propagation de la polycondensation.

Le polymère obtenu a une taille moléculaire proche de celle des substances humiques naturelles. Il présente des groupements carboxyliques, phénoliques, alcooliques et des cycles aromatiques, tout comme les substances humiques. De plus, cette macromolécule présente des propriétés complexantes vis-à-vis du cadmium. Il semble donc que cette macromolécule peut être considérée comme un modèle d'acide humique.

L'étude RPE de ce modèle d'acide humique a montré l'existence d'un paramagnétisme. Le mécanisme de formation de cette macromolécule serait donc radicalaire.

L'étude de l'autoxydation de l'acide gentisique par le dioxygène de l'air peut donc apporter un début d'interprétation au mécanisme de formation de ce modèle humique. Pour cette raison, nous avons effectué une étude très large du phénomène d'autoxydation en travaillant dans toute la gamme de pH et en faisant varier la température.

II- LA REACTION D'AUTOXYDATION

A- Mode opératoire

L'évolution d'une solution aqueuse d'acide gentisique, à un pH et une concentration déterminés, est suivie par RPE en fonction du temps et de la température. Au temps $t=0$, l'acide gentisique est ajouté à une solution de soude. La mise en solution de l'acide s'accompagne de l'apparition d'une coloration brune qui s'intensifie au cours du temps.

Un prélèvement est immédiatement placé dans une cellule plate en quartz ouverte à l'air et disposée dans la cavité du spectromètre RPE. Les spectres RPE sont enregistrés à intervalles réguliers.

B- Influences des conditions expérimentales sur l'apparition et l'évolution des radicaux

Les différents paramètres expérimentaux ont été modifiés en vue de déterminer les meilleures conditions opératoires permettant d'observer chaque espèce de radicaux. Ainsi, nous

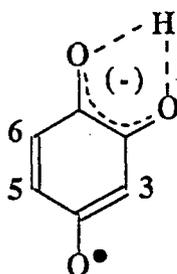
avons pu évaluer l'influence de la température, de la concentration en acide gentisique et du pH sur l'évolution de la réaction. Nous avons considéré des concentrations variant de 0,36 M à $0,36 \cdot 10^{-3} \text{M}$, des températures variant de 20 à 80°C et des pH variant de 2 à 14.

1- Le pH

Il faut rappeler que l'étude de l'autoxydation de l'acide gentisique en fonction du pH est très importante. En effet, lorsque le pH est très basique, nous sommes dans les conditions de formation du modèle d'acide humique. Un pH voisin de 6 ou 7 nous rapproche du pH physiologique, donc du milieu dans lequel l'aspirine subit ses différentes dégradations. Le pH indiqué est celui mesuré après dissolution de l'acide gentisique dans une solution de soude.

a- pH acide (pH=3)

Le seul signal obtenu est celui correspondant au radical primaire du 1,2,4-trihydroxybenzène. Comme nous sommes en milieu acide, il est très probable que ce radical soit monohydrogéné (Radical n°2).



Radical n°2

Le radical totalement ionisé a déjà été décrit par différents auteurs (11) (12). Les constantes de couplage sont proches des nôtres. Par ailleurs, nous avons synthétisé le 1,2,4-trihydroxybenzène et l'avons placé en milieu basique. Nous avons observé les mêmes constantes de couplage.

Expériences	Littérature
$a_3 = 0,65$ gauss	0,60 gauss
$a_5 = 1,37$ gauss	1,33 gauss
$a_6 = 4,90$ gauss	4,81 gauss

Tableau 19

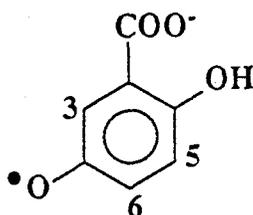
La substitution de COO^- par OH n'a jamais été observée à notre connaissance dans des conditions analogues. Matthews et Sangster (13) ont montré par radiolyse la décarboxylation de l'acide benzoïque, dans des conditions opératoires très différentes des nôtres.

b- pH physiologique (pH=6-7)

Aucun radical n'a été mis en évidence dans ces conditions opératoires.

c- pH basique

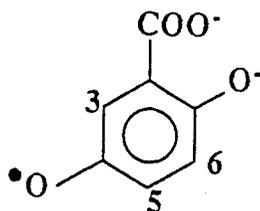
Un pH basique mais inférieur à la valeur du pK_{a3} de l'acide gentisique (12,7) permet l'obtention du radical primaire monohydrogéné de cet acide (radical n°3).



Radical n°3

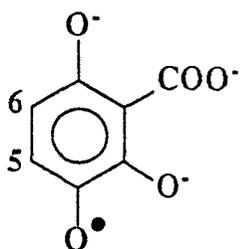
Si le pH est supérieur à cette valeur, de nombreux radicaux se forment. La simulation de spectres nous a permis de retrouver certains signaux mis en évidence dans la première partie de ce travail :

-le radical primaire de l'acide gentisique,

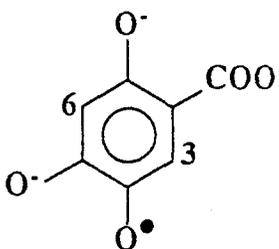


Radical n°4

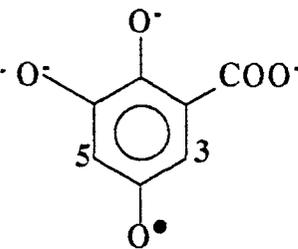
-les radicaux secondaires.



Radical n°5



Radical n°6



Radical n°7

De nouveaux signaux apparaissent également:

-trois doublets (d₄, d₅, d₆)

-un triple quadruplet (tq)

Les constantes de couplage de ces différents radicaux sont réunies dans le tableau 20.

	Constantes de couplage
Radical n°3	$a_3 = 2,60$ gauss $a_5 = 2,05$ gauss $a_6 = 2,25$ gauss
Radical n°4	$a_3 = 2,57$ gauss $a_5 = 2,05$ gauss $a_6 = 2,30$ gauss
Radical n°5	$a_5 = 5,20$ gauss $a_6 = 1,20$ gauss
Radical n°6	$a_3 = 0,45$ gauss $a_6 = 1,55$ gauss
Radical n°7	$a_3 = 0,70$ gauss $a_5 = 4,75$ gauss
d_4	0,45 gauss
d_5	0,35 gauss
d_6	0,80 gauss
tq	4,00 gauss 0,85 gauss 0,50 gauss

Tableau 20

2- La concentration en acide gentisique

Une concentration faible en acide gentisique et un pH très basique vont favoriser la formation des radicaux n°5, n°6 et n°7; c'est-à-dire les radicaux secondaires de l'acide gentisique. Il est à noter que le radical le plus souvent rencontré est le radical n°5.

3- La température

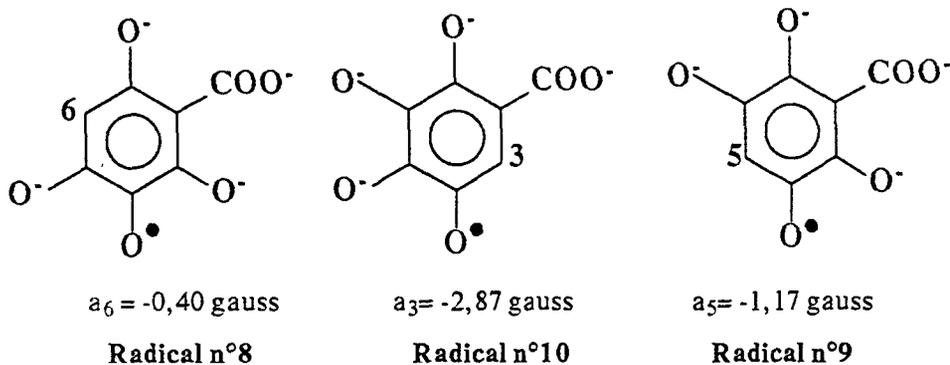
Les trois doublets d₄, d₅ et d₆ ne sont influencés ni par la concentration en acide gentisique, ni par le pH mais par la température. En effet, une élévation de la température favorisera leur formation.

La formation du triple quadruplet (tq) demande une augmentation progressive de la température du mélange réactionnel. Quand la température est supérieure à 60°, le radical se forme.

C- PROPOSITIONS DE STRUCTURES POUR LES RADICAUX NON DECRITS

1- Les doublets

Quand un doublet est observé en RPE, cela signifie qu'un seul hydrogène est couplé à l'électron célibataire. La structure la plus probable et la plus simple dans notre cas serait un radical provenant de la substitution d'un hydrogène par un groupement hydroxyle sur un acide trihydroxybenzoïque; c'est-à-dire un radical tétrahydroxylé. Trois composés peuvent être proposés (les valeurs des constantes de couplage calculées par la méthode de Mac Lachlan sont rappelées) :

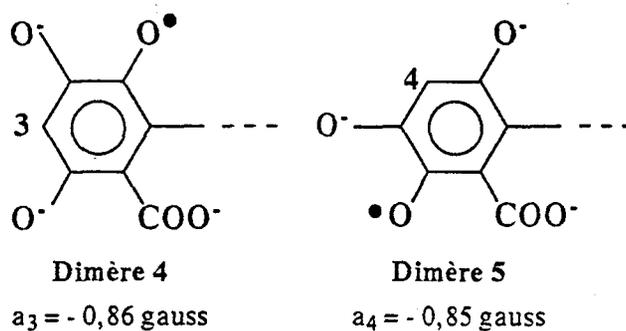


Les constantes de couplage des doublets d_4 , d_5 et d_6 sont respectivement : 0,45 gauss; 0,35 gauss et 0,80 gauss.

Le radical n°8 pourrait donc correspondre aux doublets d_4 ou d_5 .

Lors des calculs Mac Lachlan réalisés sur les différents dimères (voir première partie), nous avons remarqué que les constantes de couplage de deux de ces composés avaient des valeurs proches de celles du doublet d_6 .

Ainsi:



Il est donc très probable que le doublet d_6 ($a = 0,80$ gauss) ait une des deux structures proposées ci-dessus.

2- Le triple quadruplet

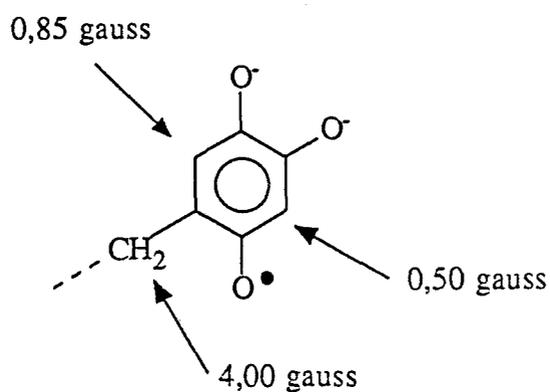
Un tel signal sous-entend la présence de quatre hydrogènes dont deux équivalents dans la molécule. Rappelons les constantes de couplage de ce radical :

0,50 gauss

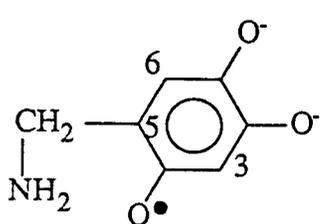
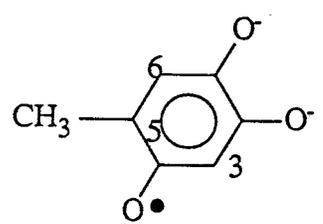
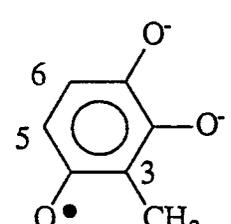
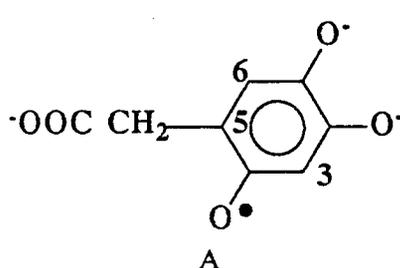
0,85 gauss

4,00 gauss

La structure suivante peut être proposée :



Une telle structure est en accord avec les constantes de couplage observées dans le cas du 1,2,4-trihydroxybenzène substitué en position 5 comme le montrent les exemples du tableau 21.

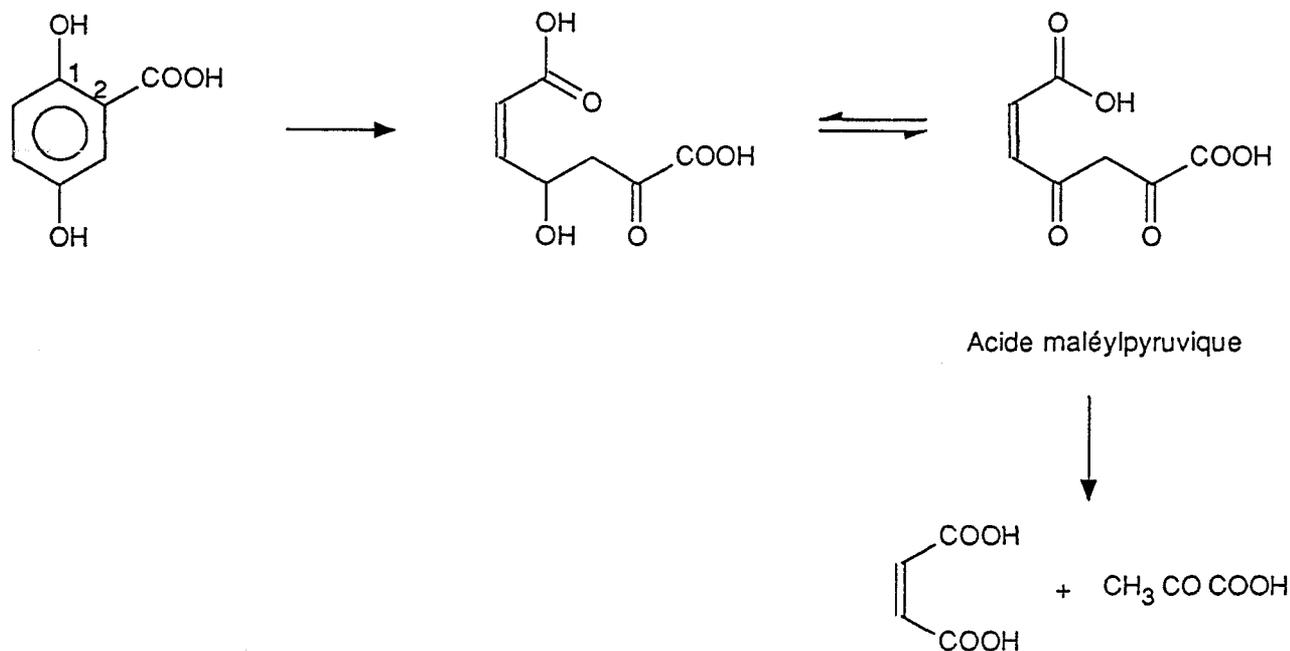
	a ₃	a ₅	a ₆
	0,60 gauss	4,15 gauss 0,65 gauss(a)	0,95 gauss(14)
	0,58 gauss	4,91 gauss	0,66 gauss(11)
	0,95 gauss	4,90 gauss	1,35 gauss(15)
 A	0,52 gauss	3,99 gauss	0,87 gauss(14)

(a) couplage de l'azote amino

Tableau 21

Les constantes de couplage du radical que nous avons observé correspondent pratiquement à celles du radical A du tableau 21.

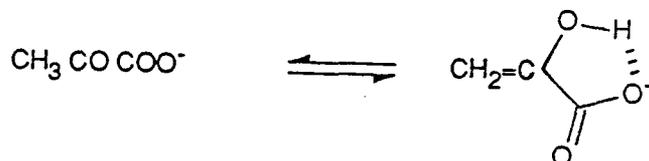
Le catabolisme de l'acide gentisique par voie enzymatique (microbe (16a), bactérie (16b)) conduit à la formation d'acide maléylpyruvique par oxydation de la liaison C1-C2.



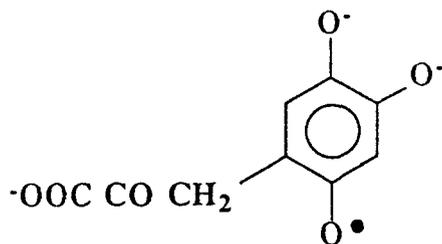
Par hydrolyse, l'acide maléylpyruvique conduit à l'obtention de deux composés : l'acide pyruvique et l'acide fumarique (16b).



Le pyruvate peut exister sous forme d'énol,



stabilisé par la fonction carboxylate. Celui-ci pourra réagir avec les benzoquinones par attaque nucléophile et permettrait d'expliquer la présence de protons méthyliques dans notre radical. Le triple quadruplet pourrait correspondre au radical suivant ou à celui de l'acide 4-hydroxyhomogentisique :

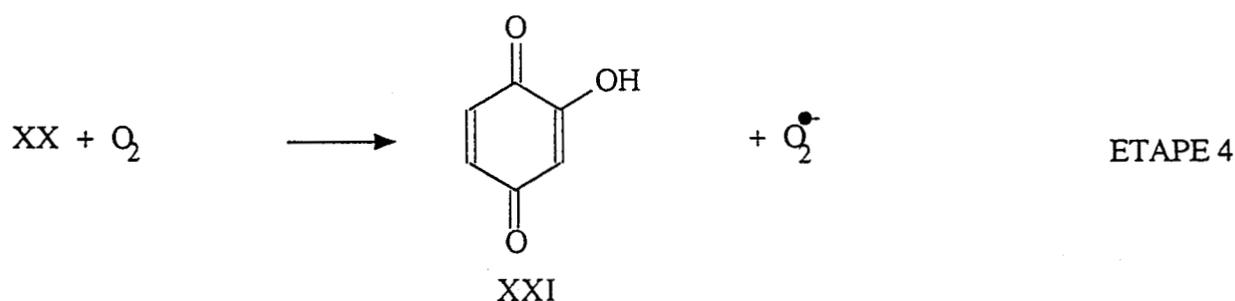
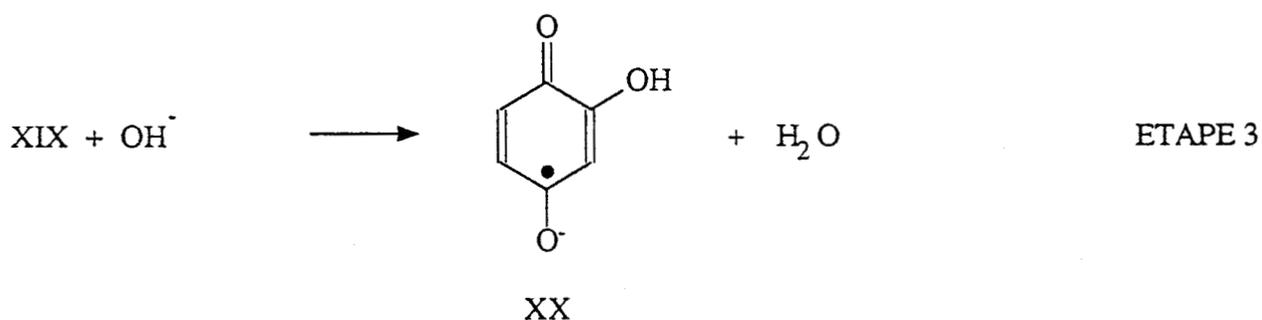
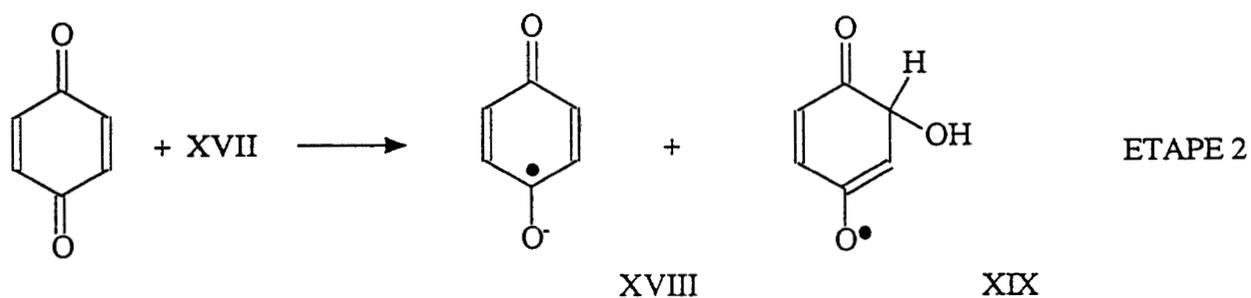
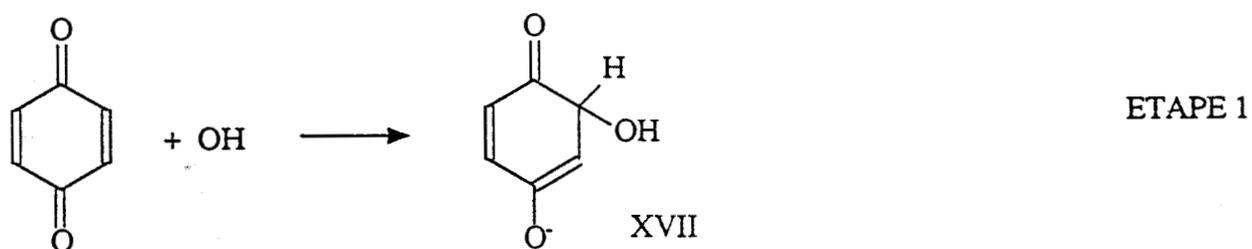


Toutefois, le mécanisme de formation de ce radical est vraisemblablement très complexe et des études complémentaires seront nécessaires.

Il faut par ailleurs signaler que l'analyse IR du modèle d'acide humique synthétisé par Ebenga aurait mis en évidence des groupements méthylènes (2850 cm^{-1} attribuable aux vibrations d'élongation de valence du groupement méthylène). L'observation de ce radical confirme donc ces résultats. C'est le premier exemple, à notre connaissance, d'oxydation de l'acide gentisique en acide maléylpyruvique par voie chimique. L'autoxydation de l'acide gentisique en milieu basique à 80°C est le premier système biomimétique de l'acide gentisique oxydase.

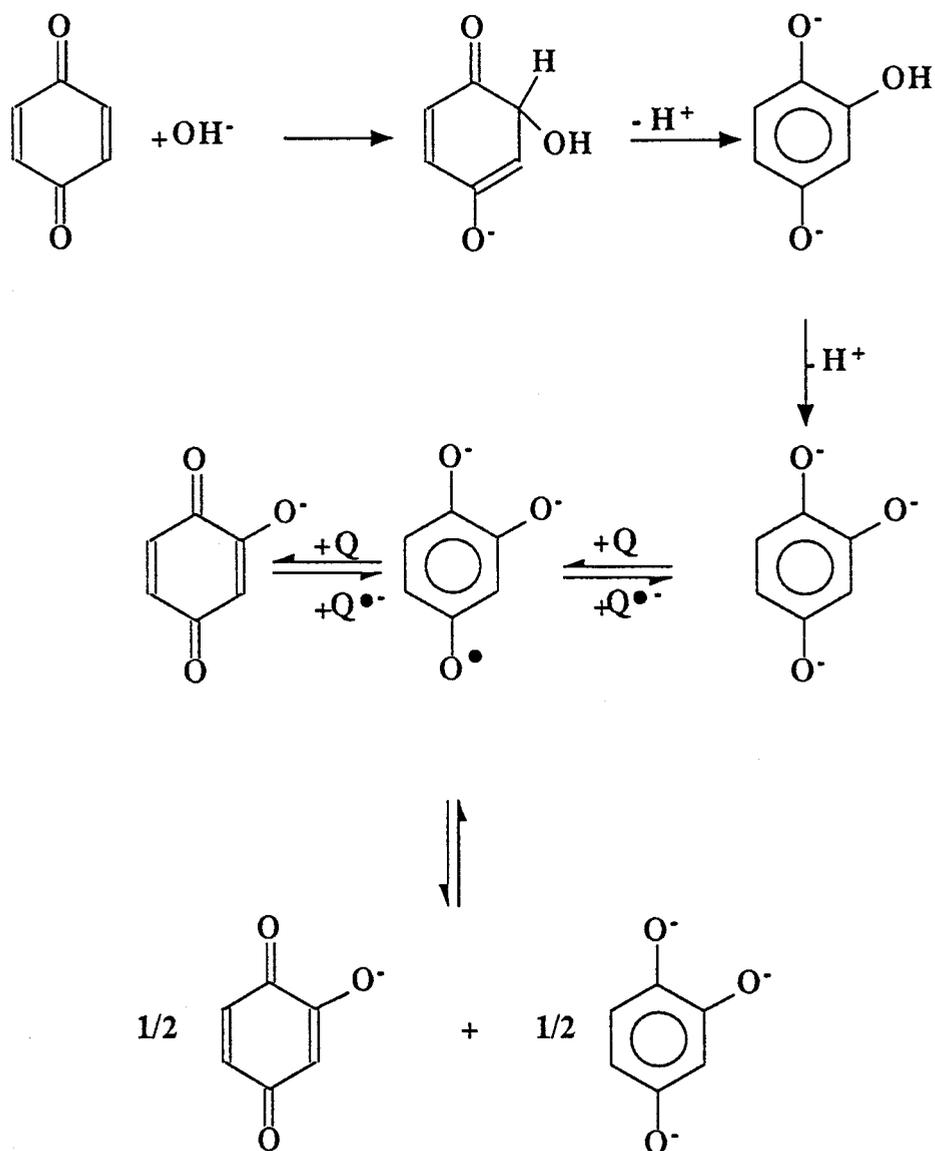
D- Mécanisme

Lors de l'étude du comportement de la *para*-benzoquinone en milieu basique, Pedersen (11) a proposé un mécanisme en vue d'expliquer la formation du 1,2,4-trihydroxybenzène. La réaction commence par la formation d'un adduit hydroxyquinonique (étape 1). Ce dernier agit comme un réducteur et la réduction provoque la formation simultanée de la semiquinone XVIII et du radical intermédiaire XIX (étape 2). Le radical secondaire 2-hydroxy-1,4-benzoquinonique XX est obtenu par arrachement d'un proton (étape 3). Si la solution est en contact avec l'air, l'oxydation par l'oxygène donne la 2-hydroxy-1,4-benzoquinone XXI (étape 4).



Le composé clef de ce mécanisme est l'intermédiaire radicalaire XIX. Ce radical est stable en solution alcaline et est décrit par Pedersen comme ayant des constantes de couplage égales à 1,91 ; 2,09 et 2,60 gauss (il est vraisemblable que le radical soit décrit par quatre constantes de couplage; celle de l'hydrogène aliphatique n'étant probablement pas nulle). Toutes sont proches de la constante de couplage de la *para*-benzosemiquinone : 2,33 gauss. Ceci indique que le radical est du type semiquinonique. L'auteur suggère que l'intermédiaire XIX est le radical de la 2,4-

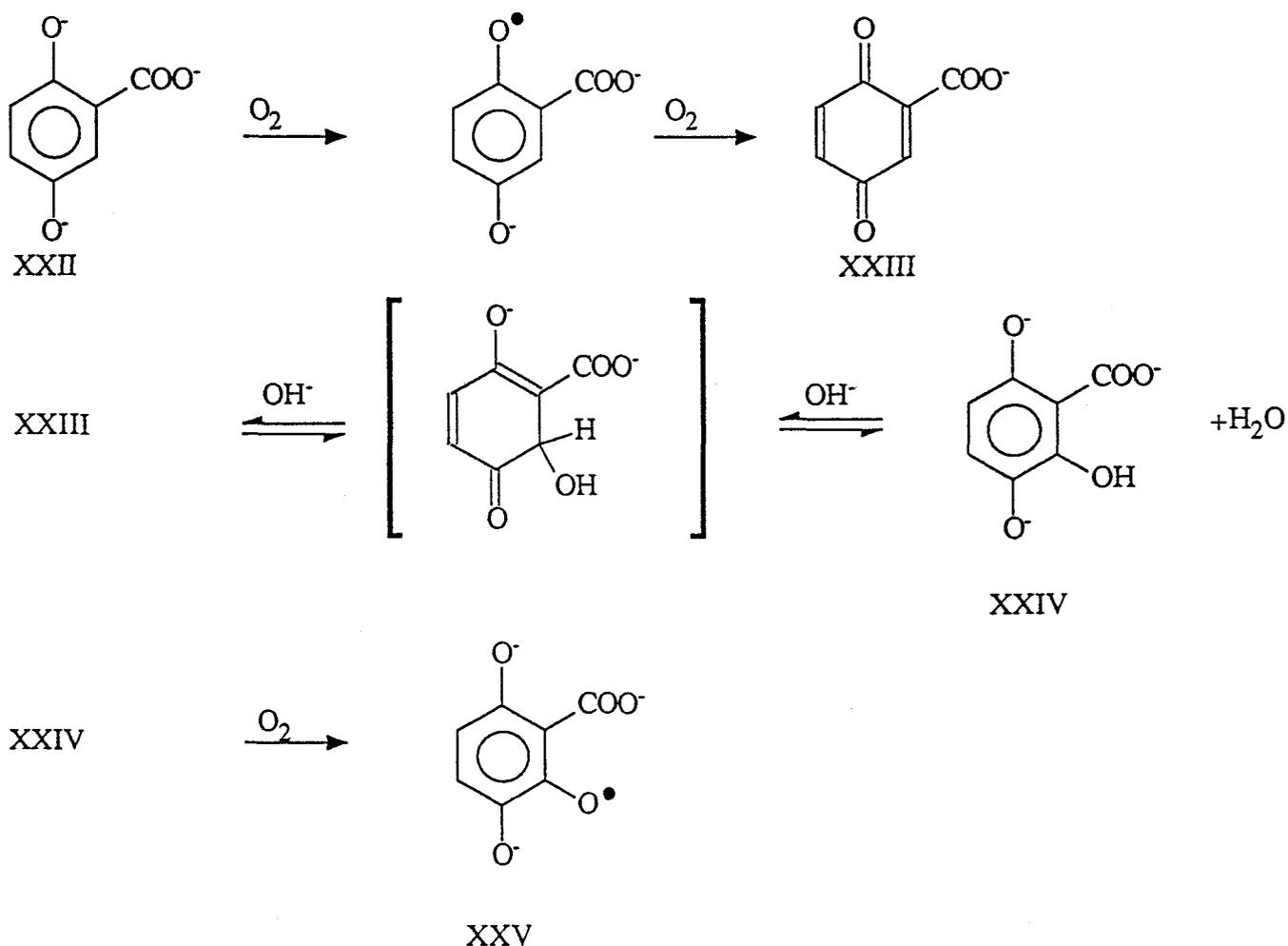
dihydroxycyclohexa-3,5-diène. Eigen et Matthies (17) ne parlent pas de cet intermédiaire et montrent que le radical du trihydroxy-1,2,4-benzène est formé par substitution d'un hydrogène par un $\text{OH}(\cdot)$ au départ de la 1,4-benzoquinone. Le schéma suivant est proposé :



Q = Benzoquinone

Nous avons pensé que ce mécanisme pouvait très bien s'appliquer à la formation de radicaux des différents acides trihydroxybenzoïques au départ d'acide gentisique. La première

étape serait l'oxydation du trianion de l'acide gentisique XXII en radical, suivie d'une seconde oxydation permettant la formation de la benzoquinone correspondante XXIII. Les oxydations sont faites par l'oxygène de l'air. La benzoquinone XXIII subit ensuite une attaque nucléophile par OH^- pour former un intermédiaire de type cyclohexadiénone. Ce dernier se transforme par élimination d'eau en XXIV qui est oxydé. Le radical primaire de l'acide 2,3,6-trihydroxybenzoïque XXV est ainsi formé.

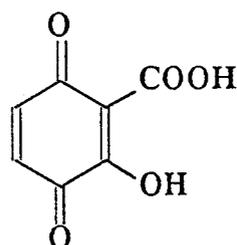


Le composé peut, à son tour, subir une substitution par le même processus. Ce mécanisme n'a jamais été vérifié. Il nous a donc semblé très intéressant de synthétiser le composé XXIII. En effet, en plaçant XXIII dans les conditions expérimentales identiques à celles utilisées lors de l'étude de l'acide gentisique, le radical primaire de ce dernier ne devrait plus se former. Cela prouverait donc que l'intermédiaire XXIII existe bel et bien.

Lorsque la gentisoquinone XXIII est ajoutée à une solution de soude, le premier radical formé est celui de l'acide 2,3,6-trihydroxybenzoïque dont les constantes de couplage sont égales à 5,15 et 1,15 gauss. Nous passons donc bien par l'intermédiaire XXIII.

La synthèse de l'acide XXIII a été réalisée selon la procédure décrite par Holmes et son équipe (18). Ce produit ne peut être obtenu qu'en solution chloroformique car il se décompose très rapidement. Cette synthèse doit être effectuée avec du chloroforme sans stabilisant (en général, l'éthanol) sinon la 2-carboxybenzoquinone réagit très rapidement avec l'éthanol, pour donner la 2-carboxy-3-éthoxybenzoquinone. L'acide gentisique est oxydé par le sulfate de cérium ammonium et le composé XXIII est ainsi formé.

Les mêmes auteurs proposent la synthèse du produit XXVI :



XXVI

Cette préparation demande un temps un peu plus long que celui nécessaire à la synthèse du composé XXIII et se fait non plus en présence de chloroforme mais avec du tétrachlorure de carbone.

Nous avons suivi en RMN l'évolution de cette réaction en fonction du temps et il s'avère que l'acide gentisique est rapidement oxydé en 2-carboxybenzoquinone XXIII. Cette quinone réagit aussitôt avec l'eau dissoute dans le tétrachlorure de carbone (0,02% d'eau résiduelle) pour donner quantitativement (par rapport à l'eau) la quinone XXVI. L'étape limitante de la réaction n'est pas l'hydroxylation mais l'oxydation de l'acide gentisique.

Temps (en minutes)	XXIII en %	XXIV en %
2	100	-
5	85	15
10	75	25
15	50	50
45	-	100

Tableau 22

E- Autoxydation des acides trihydroxybenzoïques

La procédure expérimentale est identique à celle utilisée lors de l'étude du comportement de l'acide gentisique en milieu basique. Différents points peuvent être soulignés à partir de cette étude.

1- Lorsque le pH est très basique c'est-à-dire égal à 14, les spectres analysés sont formés des radicaux primaires des trois acides trihydroxybenzoïques.

2- Lorsque le pH diminue tout en restant basique, une légère modification dans les constantes de couplage est observée. Ainsi,

	pH= 13,98 (en gauss)	pH= 12,45 (en gauss)
2,3,5-ATHB	a ₄ = 0,70 a ₆ = 5,30	0,70 4,75
2,3,6-ATHB	a ₄ = 1,25 a ₅ = 5,30	1,15 5,15
2,4,5-ATHB	a ₃ = 0,40 a ₆ = 1,70	0,45 1,45

ATHB : Acide trihydroxybenzoïque

Tableau 23

A pH 12,45, il est très probable que les différents acides benzoïques gardent un ou plusieurs de leurs groupements hydroxyles protonés. Nous avons observé le même phénomène lors de l'étude de l'acide gentisique.

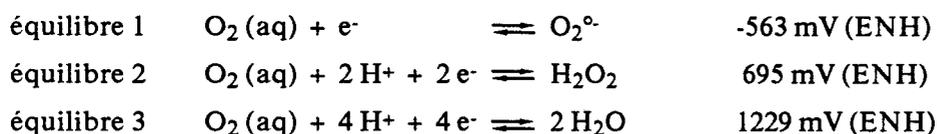
3- Le radical primaire de l'acide 2,3,5-trihydroxybenzoïque est très stable et donc très peu réactif au contraire de ses deux isomères.

4- Différents singulets ont été mis en évidence confirmant ainsi la formation de dimères.



F- Conclusions

On a pu constater que les résultats obtenus lors de l'autoxydation de l'acide gentisique sont très fortement dépendants du pH. Notre conclusion va donc s'articuler autour de la variation de ce paramètre. La réduction de l'oxygène en solution aqueuse peut se représenter par plusieurs équilibres :



1- pH basique

Dans ce cas, la réduction de l'oxygène se fera vraisemblablement selon l'équilibre 1, les équilibres 2 et 3 n'intervenant qu'en milieu acide. Il y aura probablement assistance par les métaux de transition (Fe(III) par exemple) présents à l'état de traces dans l'eau et la soude. Miller et Coll.(20) ont montré l'importance de ces métaux qui, chélatés par la biomolécule, permettent une réduction plus facile de l'oxygène en ion superoxyde $O_2^{\circ-}$. Le potentiel normal de l'équilibre 1 est de -563 mV/ENH. A pH 13,7, le potentiel d'oxydation de l'acide gentisique est de +61 mV/ENH. L'autoxydation de l'acide gentisique paraît donc fortement défavorable dans ces conditions.

Il a été montré que l'ion ascorbate s'autoxyde à l'air en radical ascorbyle en produisant $O_2^{\circ-}$ (21,22). Or, le potentiel normal de l'ion ascorbate est de +720mV (23). Cette réaction d'autoxydation est donc thermodynamiquement très défavorisée et plusieurs auteurs (20) ont pu montrer qu'elle ne se faisait qu'en présence de métaux. L'intervention catalytique des métaux de transition expliquerait donc l'oxydation à un électron de l'acide gentisique conduisant au radical semiquinonique ; celui-ci est facilement observé en début de réaction en milieu basique. Le radical semiquinonique serait ensuite oxydé en quinone, à nouveau par un processus à un électron et c'est à ce niveau que s'effectuerait la substitution par OH^- .

Si l'on s'intéresse maintenant à la synthèse du modèle humique nous pourrions agir sur la structure du modèle :

- à pH élevé, on favorise la substitution des hydrogènes par les groupements hydroxyles. On pourra donc ainsi obtenir des modèles plus riches en oxygène.

- une élévation de température produira le même effet tout en permettant la formation du radical tq. On pourra donc agir sur la proportion de carbones sp³ présents dans le modèle humique.

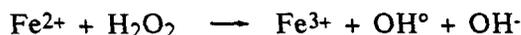
2- pH acide

En milieu acide, les trois équilibres de réduction de l'oxygène peuvent être envisagés. Cependant, comme les radicaux observés sont totalement différents de ceux obtenus en milieu basique, on peut penser que ce sont surtout les équilibres 2 ou 3 qui interviennent. Il faut d'ailleurs remarquer que le potentiel d'oxydation de l'acide gentisique vers pH 1 serait de l'ordre de +851 mV ce qui rendrait l'intervention de l'équilibre 1 encore plus hypothétique.

Matthews et Sangster (13) ont montré que la décarboxylation des acides aromatiques se faisait par l'intermédiaire des radicaux hydroxyles.

L'équilibre 3 engendre de l'eau et ne permet pas d'expliquer la formation de radicaux hydroxyles.

Par contre, lors de la réaction 2, on obtient de l'eau oxygénée qui peut être la source des radicaux hydroxyles formés par la réaction de Fenton :



Il est cependant peu probable que l'on puisse avoir des ions Fe²⁺ dans notre milieu réactionnel. Récemment, Ozawa et Hanaki (26) ont mis en évidence la production de radicaux hydroxyles par décomposition de H₂O₂ en présence de sels cuivriques. Ceux-ci seraient d'abord réduits en ions cuivreux selon la réaction :

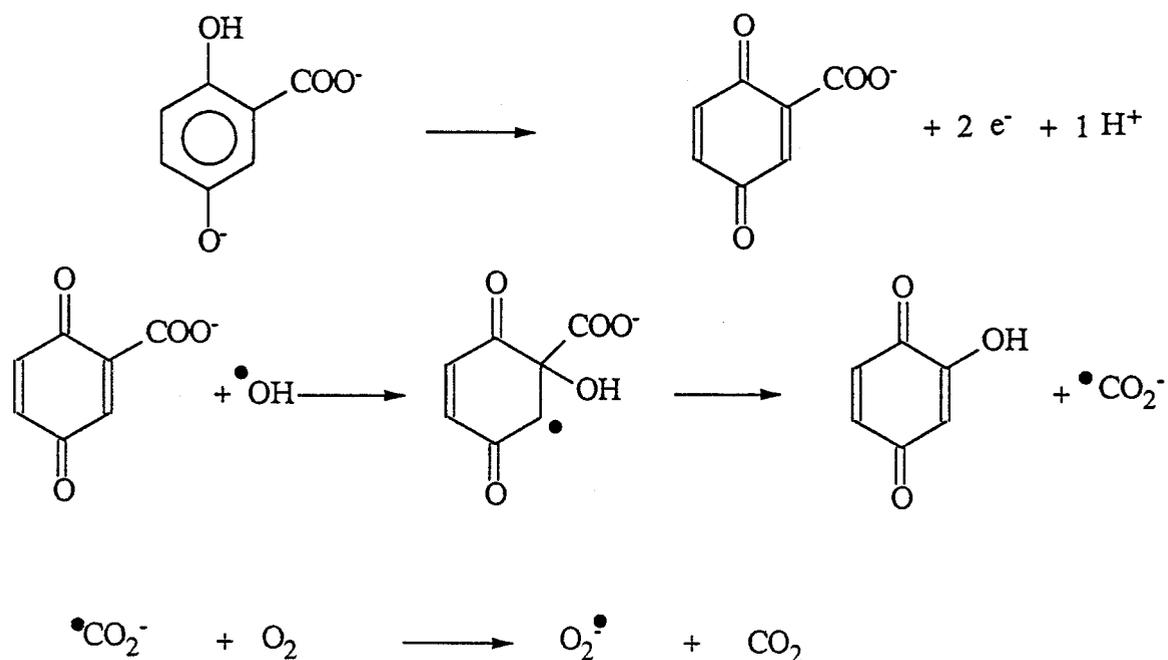


Les ions cuivreux induiraient alors une réaction de type Fenton.

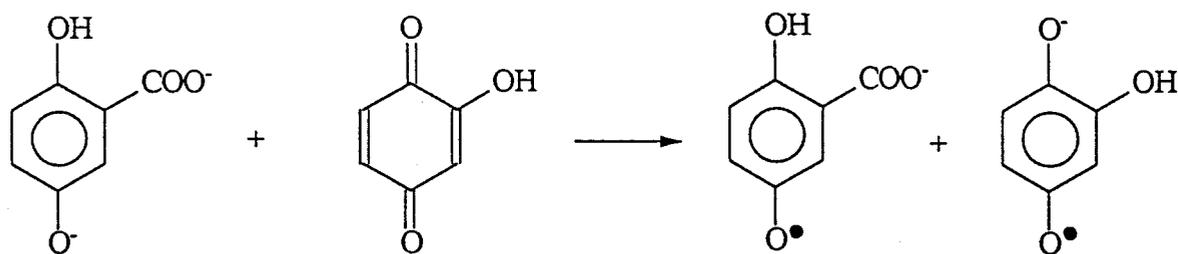


Cette dernière réaction serait d'ailleurs favorisée en milieu acide. Une telle explication peut donc parfaitement justifier la présence de radicaux hydroxyles nécessaires à la décarboxylation de l'acide gentisique, les ions Cu²⁺ étant apportés par la soude ou l'eau.

Selon Loeff et Sallow (24), la décarboxylation de l'acide benzoïque est réalisée à partir du carboxylate d'hydroxycyclohexadiényle. Nous pouvons appliquer ce mécanisme à la décarboxylation de l'acide gentisique en milieu acide.



L'hydroxybenzoquinone ainsi formée peut être réduite par l'acide gentisique qui subirait quant à lui une oxydation en radical semi-quinonique :



3- pH physiologique

A ce pH, aucun radical n'a pu être détecté. On peut interpréter ce résultat en considérant que les équilibres 2 et 3 ne peuvent intervenir, ceux-ci étant spécifiques du milieu acide. A pH 7, le potentiel d'oxydation de l'acide gentisique se situe aux environs de + 321 mV, ce qui rend improbable une réduction de l'oxygène selon l'équilibre 1. L'effet d'assistance des métaux de transition ne serait plus suffisant dans ce cas.

Rappelons qu'à ce pH, l'acide salicylique se transforme en catéchol, en acide 2,3-dihydroxybenzoïque et en acide gentisique en présence de °OH ou par voie enzymatique. Aucun produit d'oxydation de l'acide gentisique n'a été isolé. Nos résultats seraient donc en accord avec les observations effectuées sur le catabolisme de l'acide salicylique (25).

Si, au pH physiologique, l'acide gentisique ne s'autoxyde pas, celui-ci ne pourra-t-il pas jouer néanmoins un rôle d'antioxydant ? C'est ce que nous tenterons d'élucider dans la dernière partie de travail.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES
Deuxième partie

- 1 **Ebenga J.P., Imbenotte M., Pommery J., Catteau J.P. and Erb F.**
Water Research, 1986, 20, 1383

- 2 **Thurmond E.M. and Malcolm R.L.**
Aquatic Terrestrial Humic Materials
Ed. Christman and Gjessing 1983

- 3 **Liao W.T.**
Ph.D.Thesis, University of North Carolina - Chapel Hill, 1981

- 4 **Christmans R.F. and Ghassemi M.**
J. Am. Water Works Assoc., 1966, 58, 723

- 5 **Ertel J.R., Hedges J.I. and Perdue E.**
Science, 1984, 223, 48

- 6 **Aiken G.R., Mac Knight D.M., Wershaw R.L. and Mac Carthy P.**
Humic Substances in Soil, Sediment and Water : Geochemistry, Isolation and
Characterization
Ed. Wiley - Interscience 1985

- 7 **Malcolm R.L. and Mac Carthy P.**
Environ. Sci. Technol., 1986, 20, 904

- 8 a. **Khan S.U. and Schnitzer M.**
Israel J. Chem., 1971, 9, 667
b. **Khan S.U. and Schnitzer M.**
Humic Substances in the Environment
Ed. Dekker Inc. 1972
c. **Liao W., Christman R.F., Johnson J.D. and Millington D.S.**
Environ. Sci. Technol., 1982, 16, 403
d. **Neyroud J.A. and Schnitzer M.**
Geoderma, 1975, 13, 171

9 Cornec P. et Brusset H.

C.R. Acad. Sci. Paris, 1950, 230, 1860

10 Ebenga J.P.

Thèse de doctorat 1987

11 Pedersen J.A.

J. Chem. Soc. Perkin Trans II, 1973, 424

12 Stone T.J. and Waters W.A.

J. Chem. Soc., 1965, 1488

13 Matthews R.W. and Sangster D.F.

J. Phys. Chem., 1965, 69, 1938

14 Pedersen J.A.

Ph.D. Thesis 1973

15 Lott K.A., Short E.L. and Waters D.N.

J. Chem. Soc. B, 1969, 1232

16 a. Sugiyama S., Tanaka H., Yano K. and Arima K.

Bull. Agr. Chem. Soc. Japan, 1960, 24, 3, 255

b. Hagedorn S.R., Bradley G. and Chapman P.J.

J. Bact., 1985, 163, 2, 640

17 Eigen M. und Matthies P.

Chem. Ber., 1961, 94, 3309

18 Holmes T.J., John V., Vennerstrom J. and Choi K.E.

J. Org. Chem., 1984, 49, 4736

19 a. De Bethune A.J. and Loud N.A.S.

Standard Aqueous Electrode Potentials and Temperature Coefficients

Ed. Hampel, Skokie, Illinois 1964

b. Latimer W.M.

Oxidation Potentials

Ed. Prentice - Hall (N-Y) 1952

- 20 **Miller D.M., Buettner G.R. and Aust S.D.**
Free Radical Biol. Med., 1990, 8, 95
- 21 **Scarpa M., Stevanato R., Viglino P. and Rigo A.**
J. Biol., 1983, 2548, 6695
- 22 **Boyer R.F. and Mac Clealy C.J.**
Free Radical Biol. Med., 1987, 3, 389
- 23 **Creutz C.**
Inorg. Chem., 1981, 20, 4449
- 24 **Loeff I. and Swallow A.J.**
J. Phys. Chem. ,1964, 68, 2470
- 25 **Moorhouse L.A., Halliwell B. , Grootvelt M. and Gutteridge J.M.C.**
Biochem. Biophys. Acta, 1985, 843, 261
- 26 **Ozawa T and Hanaki A.**
J. Chem. Soc. Chem. Comm., 1991, 330

TROISIEME PARTIE

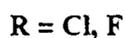
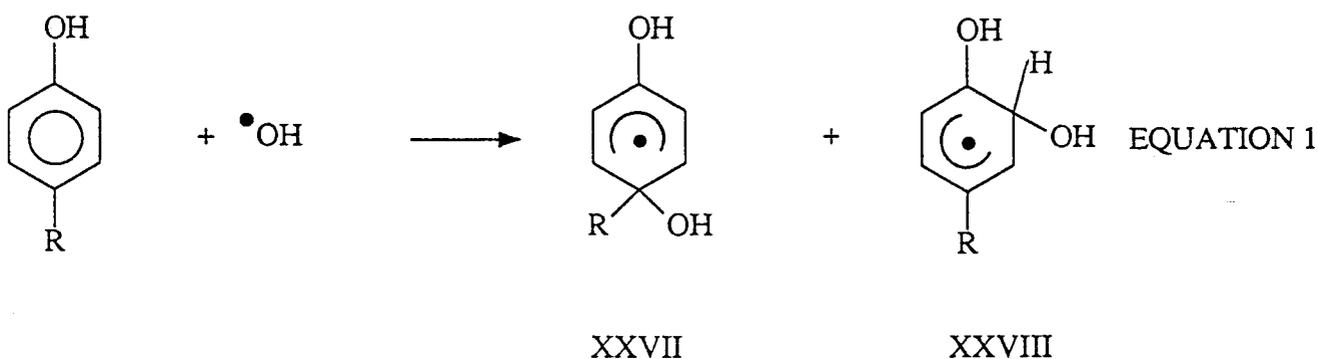
PROPRIETES ANTIOXYDANTES

REACTIVITE DE L'ACIDE GENTISIQUE ET DE SES DERIVES

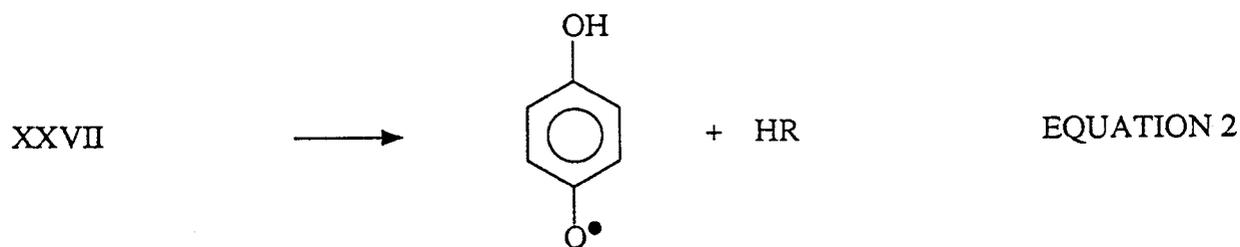
VIS-A-VIS DU RADICAL HYDROXYLE

Les radicaux hydroxyles (OH^\bullet) réagissent facilement sur les dérivés aromatiques pour former les radicaux hydroxy-cyclohexadiényles. L'existence de ces intermédiaires a été montrée par radiolyse pulsée (1) (2) et confirmée sans ambiguïté par la spectroscopie RPE (3).

Plusieurs chercheurs ont avancé l'idée que le radical OH^\bullet ressemblait aux réactifs électrophiles standards et qu'il montrait une préférence pour attaquer les positions à forte densité électronique dans les cycles aromatiques. Dans les phénols, les points d'attaque principaux sont les positions para et ortho (équation 1).

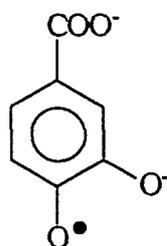


Les intermédiaires XXVII et XXVIII peuvent alors réagir par dimérisation, par oxydation ou par déplacement intramoléculaire de HR. La réaction de déplacement (équation n°2) donne, en plus de l'acide libre HR, l'hydroquinone XXIX.

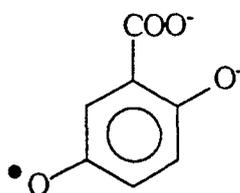


Günther et ses collaborateurs (4) ont, quant à eux, étudié la réaction des radicaux $^\circ\text{OH}$ sur les composés suivants : les 2-bromo-, 2-nitro-, 2-chloro-, 2-fluorophénols, le 4-bromophénol et le 4-hydroxybenzaldéhyde. Selon les cas, les radicaux correspondant aux 1,4- ou 1,2-benzoquinones ont été observés. La facilité avec laquelle la fonction aldéhyde est remplacée par OH a conduit ces mêmes auteurs à essayer de décarboxyler les acides hydroxybenzoïques dans des conditions similaires à celles utilisées par Jefcoate et Norman (5). Ils ont ainsi remarqué que cette

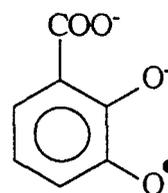
décarboxylation ne se produisait pas mais que les trois isomères dihydroxylés (XXX, XXXI, XXXII) étaient observés.



XXX



XXXI



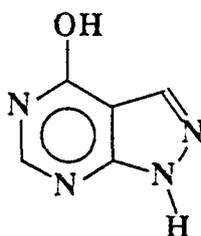
XXXII

Lors de la réaction avec l'acide *para*-hydroxybenzoïque, seul le radical XXIX est mis en évidence. Par contre, les acides *ortho* et *mé*ta-hydroxybenzoïques donnent des mélanges de deux (XXXI et XXXII) ou trois (XXIII, XXIV et XXV) radicaux respectivement. Les différents composés subissant cette substitution radicalaire sont dits "antioxydants". En effet, ils "piègent" ainsi les radicaux °OH en formant de nouveaux composés qui pourront à leur tour, jouer le rôle d'antioxydant.

De nombreuses thérapeutiques antioxydantes ont été développées selon les principes suivants :

- *inhiber la formation de $O_2^{\bullet-}$* (6)

Par exemple, le système xanthine - xanthine oxydase, responsable de la formation de $O_2^{\bullet-}$, est inhibée par l'allopurinol.



Cette molécule est connue et utilisée comme antigoutteux.

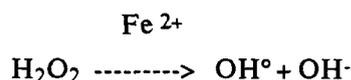
- détourner $O_2^{\circ-}$ de la formation de $^{\circ}OH$

En dismutant $O_2^{\circ-}$, la superoxyde dismutase entraîne la formation de H_2O_2 mais soustrait $O_2^{\circ-}$ à la réaction d'Haber-Weiss génératrice des radicaux $^{\circ}OH$ (6).

La superoxyde dismutase "Cu, Zn" est utilisée en thérapeutique (7) avec des résultats intéressants en particulier dans le cas d'affections rhumatismales.

- empêcher la réaction de Fenton

soit en bloquant le (ou les) catalyseurs de la réaction de Fenton, généralement par complexation.



- piéger $^{\circ}OH$ dès sa production.

C'est cette propriété antioxydante que nous avons décidé de mesurer sur l'acide gentisique et sur ses dérivés hydroxylés. La stratégie expérimentale fera appel aux techniques de "spin-trapping" dont nous allons évoquer les modalités de mise en oeuvre.

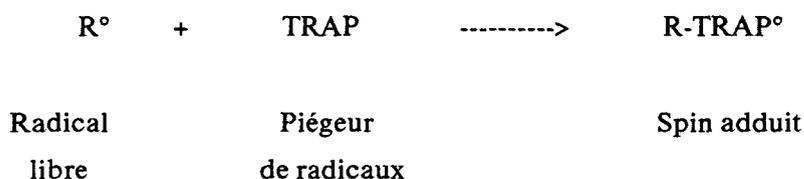
I- LE SPIN TRAPPING

En médecine et en biologie, les radicaux libres sont d'un grand intérêt parce qu'ils sont impliqués dans de nombreux aspects du métabolisme s'étendant de la consommation d'oxygène au métabolisme xénobiotique.

Par sa capacité à détecter les faibles concentrations ($\sim 10^{-8}$ M), sa sensibilité à l'environnement et aux mouvements, la RPE sera la technique mise en oeuvre dans ces études. Pourtant certains radicaux, présents à des concentrations supérieures à 10^{-8} M, ne peuvent être observés en RPE à température ambiante parce que leur durée de vie est très courte (c'est le cas pour les radicaux tels que : $O_2^{\circ-}$, $^{\circ}OH$, les radicaux alkoxyles qui ne peuvent s'accumuler en quantité suffisante). Différentes méthodes ont été employées pour contourner ce problème : la radiolyse in situ à haute énergie, la photolyse à haute intensité, ...

En 1968, à l'Université de Georgie, la technique de "spin trapping" est introduite par l'équipe du Professeur Janzen. Cette technique implique la réaction d'addition du radical libre, qui nous intéresse, sur un composé diamagnétique, appelé piéreur de radicaux (ou "spin trapping"), pour donner naissance à un radical libre d'une durée de vie relativement longue et

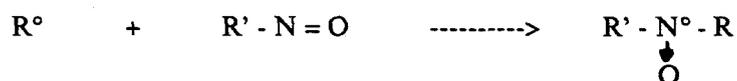
s'accumulant à une concentration suffisante pour être observé en RPE. Ce nouveau radical libre est appelé "spin adduit".



La procédure expérimentale employée dans les expériences de piégeage de radicaux, dépend de certains facteurs tels que le mode de production du radical (R°), l'inertie du solvant et des réactifs vis-à-vis du piégeur de radicaux, la durée de vie du spin adduit,...

Il existe deux grandes familles de piégeurs de radicaux : les composés nitroso et les nitrones.

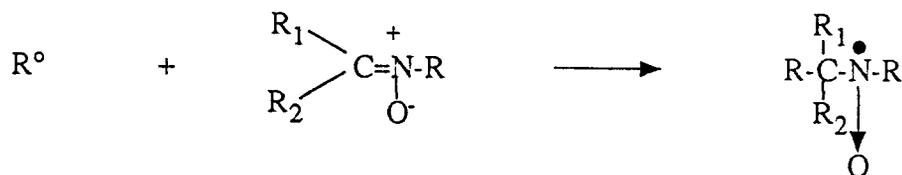
A- Les composés nitroso



Les composés nitroso ont un avantage sur les nitrones pour l'identification du spin adduit. En effet, le radical R° se fixe directement sur l'azote et peut donner naissance à un couplage hyperfin supplémentaire.

Par contre, ces composés ne sont ni thermiquement ni photochimiquement stables. Ainsi, les spectres RPE de leurs spin adduits montrent la présence de nitroxydes qui gênent l'observation et l'interprétation de certains spectres. Il existe d'autres problèmes inhérents à l'utilisation des composés nitroso dans les applications du spin-trapping. En effet, ces composés ont tendance à former des dimères inertes vis-à-vis des radicaux à piéger (9). Donc, dans les applications quantitatives, il est nécessaire de tenir compte de cette formation de dimères. De plus, les composés nitroso ne sont pas fiables pour les radicaux centrés sur l'oxygène tels que OH° , O_2° ,...

B- Les nitrones

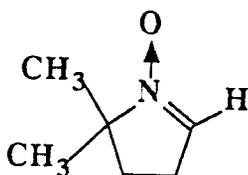


Lorsque les nitrones sont utilisées comme piègeurs de radicaux, on perd une partie des informations puisque le radical vient se fixer sur le carbone voisin de l'azote.

Par contre, ces produits n'ont pas tendance à se dimériser. Beaucoup de spin adduits formés à partir des nitrones sont stables pour de longues durées ; ainsi, le spin adduit phényle avec le P.B.N. (N-tert-butyl- α -phénylnitronne) a une demi-vie de quelques semaines (10).

Le plus grand désavantage des nitrones est leur tendance à réagir avec les nucléophiles.

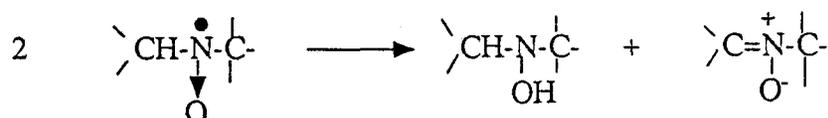
Le nitronne le plus couramment utilisé est le 5,5-diméthyl-1-pyrroline-N-oxyde (DMPO) qui a été introduit par Janzen lui-même en 1972 (11)(12). Il possède un hydrogène β ce qui peut donner des informations sur le radical piégé.



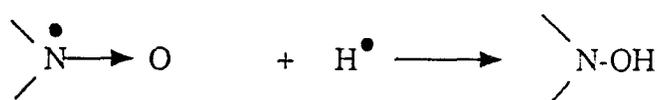
DMPO

Les spin adduits venant de la combinaison des nitrones et du radical peuvent se dégrader selon différentes voies :

1° les spin adduits ayant un hydrogène attaché au carbone voisin de l'azote peuvent se décomposer comme suit (13) :



2° les spin adduits peuvent aussi se réduire :



3° les nitroxydes peuvent s'oxyder mais cette réaction est moins fréquente surtout en milieu biologique (14) :



4° les spins adduits peuvent aussi se cliver et les fragments ainsi formés peuvent donner de nouveaux radicaux. On observe ce phénomène quand les groupes s'additionnant au piègeur de radicaux contiennent des liaisons faibles telles que O-O ou N=N.

Le solvant peut avoir un effet majeur sur les couplages hyperfins observés pour un adduit. Le changement de solvant peut produire une modification plus importante sur le couplage hyperfin de l'adduit que celle apportée lorsqu'il y a des changements sur la structure de l'adduit.

En général, une hausse de la polarité du solvant provoque une augmentation du couplage hyperfin de l'azote puisque la densité de spin sur l'azote augmente. Donc, le couplage de l'hydrogène β va diminuer. Actuellement, on ne peut prédire comment a_{H} ou a_{N} vont varier avec la nature du solvant bien que des approches empiriques aient été réalisées (15)(16) .

II- PRINCIPE DU TEST ANTIOXYDANT

L'une des approches du traitement de nombreuses maladies inflammatoires est l'administration de systèmes antioxydants présentant une forte affinité pour le radical hydroxyle. Très récemment, Haseloff et coll. (17) ont étudié *in vitro* l'activité antioxydante d'esters de dérivés de l'acide benzoïque: esters des acides gallique, *para* ou *méta* hydroxybenzoïque. Ils ont tenté d'établir une corrélation entre leur aptitude à piéger les radicaux °OH et leur activité antipsoriatique.

Les propriétés antiinflammatoires et antioxydantes de l'acide salicylique ne sont plus à démontrer. L'acide gentisique étant un des métabolites de l'acide salicylique, il nous a paru intéressant de tester ses propriétés antioxydantes vis-à-vis des radicaux hydroxyles. Par la même occasion, nous avons comparé son pouvoir antioxydant à ses propres dérivés hydroxylés (acides dihydroxybenzoïques) ainsi qu'à un certain nombre de molécules dont les propriétés sont déjà bien établies.

Le test antioxydant a été réalisé en milieu tamponné à pH=7,4 dans un double but:

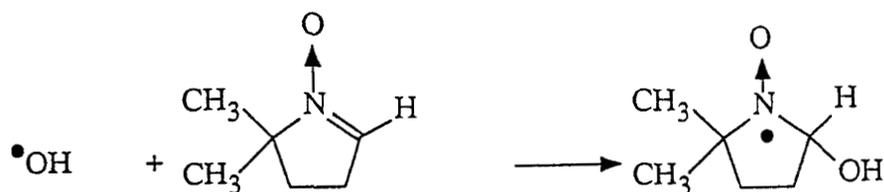
-d'une part, se rapprocher au maximum des conditions physiologiques,

-d'autre part, s'affranchir des réactions d'autoxydation se produisant en milieu basique.

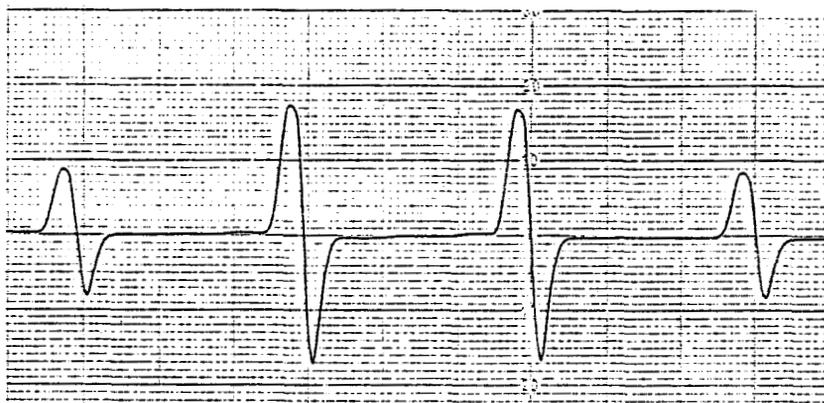
On génère des radicaux °OH en présence d'un antioxydant et d'un "piégeur" de radicaux: le 5,5-diméthyl-1-pyrroline-N-oxyde (DMPO). Les radicaux °OH vont donc soit être piégés par le DMPO et former du DMPO-OH soit se combiner avec l'antioxydant ou enfin se désactiver. Lorsque la concentration en antioxydant est importante, la concentration en radicaux DMPO-OH diminue. Nous suivons donc l'évolution du signal RPE de l'adduit DMPO-OH en fonction de la concentration en antioxydant. L'efficacité des différents antioxydants sera chiffrée par la concentration nécessaire pour obtenir une diminution de 50% de la surface des raies du signal RPE du DMPO-OH (IC₅₀). Plus cette concentration en antioxydant est faible plus ce dernier est efficace. On tracera donc le graphique suivant: le pourcentage en DMPO-OH en fonction du logarithme de l'inverse de la concentration en antioxydant. La courbe obtenue a une allure sigmoïdale et la valeur de IC₅₀ se trouve dans la partie linéaire du tracé. Les radicaux hydroxyles seront générés par le système de Fenton selon la réaction suivante:



Le signal RPE de l'adduit DMPO-OH



Théoriquement, le signal RPE de l'adduit DMPO-OH devrait être un triplet dédoublé, l'azote ayant son spin égal à 1. Mais les constantes de couplage de ce radical sont telles que le spectre est constitué de quatre raies d'intensité respective: 1:2:2:1.



Spectre 3

III- RESULTATS

En plus de l'acide gentisique, il nous a semblé intéressant d'étudier les propriétés antioxydantes des acides trihydroxybenzoïques et du 1,2,3-trihydroxybenzène, ces produits se formant lors de l'autoxydation de l'acide gentisique. En utilisant toujours le même test, ces produits ont été comparés à des antioxydants déjà connus et présentant de grandes analogies structurales. Nous avons choisi: l'acide salicylique, l'acide gallique, les acides dihydroxybenzoïques isomères de l'acide gentisique, le 1,2,3- trihydroxybenzène et le catéchol.

Un exemple de courbe d'inhibition obtenue est présenté sur la figure 13 et les valeurs calculées des IC_{50} sont données dans le tableau 24.

	IC ₅₀	
	- Log C(M)	C (μM)
1,2,4-THB	8,1	7,94 10 ⁻³
Ca	8,0	1,00 10 ⁻²
1,2,3-THB	7,9	1,26 10 ⁻²
2,3,4-ATHB	6,9	1,15 10 ⁻¹
3,4-ADHB	6,5	3,16 10 ⁻¹
2,4,5-ATHB	5,7	1,90
2,3,5-ATHB	5,5	3,10
2,3,6-ATHB	5,1	7,60
A.Ga.	4,9	11,70
A.S	4,1	66,10
2,3-ADHB	4,1	66,10
A.G.	3,9	114,80

C: Concentration

THB: Trihydroxybenzène

Ca: Catéchol

ATHB: Acide trihydroxybenzoïque

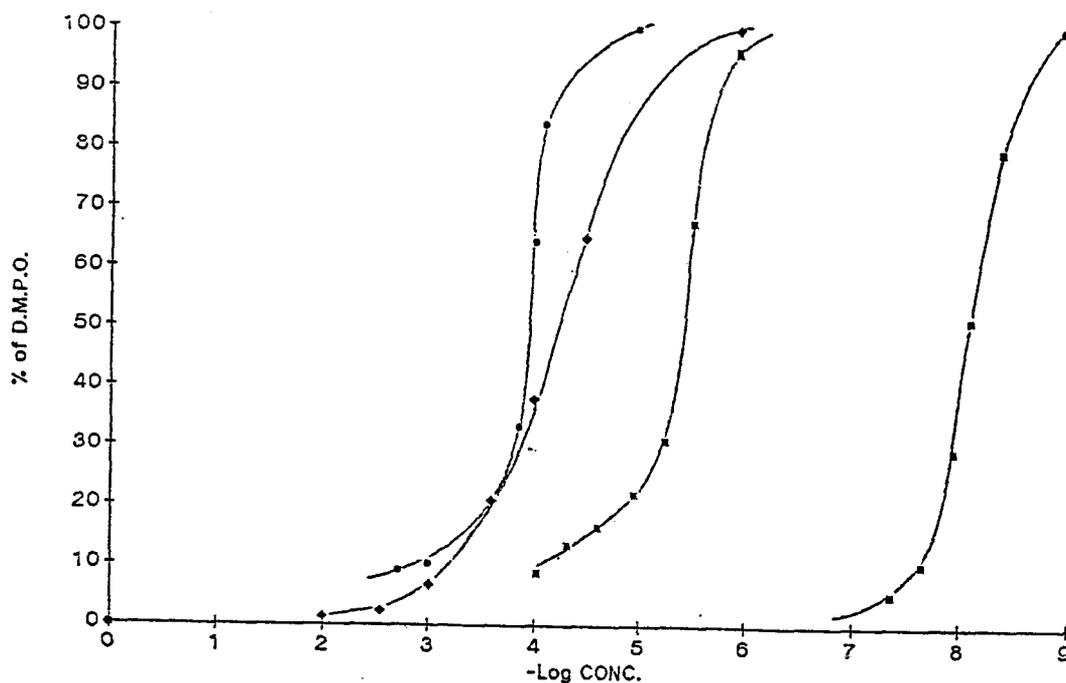
ADHB: Acide dihydroxybenzoïque

A.Ga.: Acide gallique

A.S.: Acide salicylique

A.G.: Acide gentisique

Tableau 24



Diminution de l'intensité du signal RPE du DMPO-OH en présence d'antioxydants (100% : pas d'antioxydant dans le milieu)
 ◆ = acide salicylique, ● = 2,5-ADHB, * = 3,4-ADHB, ■ = Catéchol

Figure 13

On peut donc constater que :

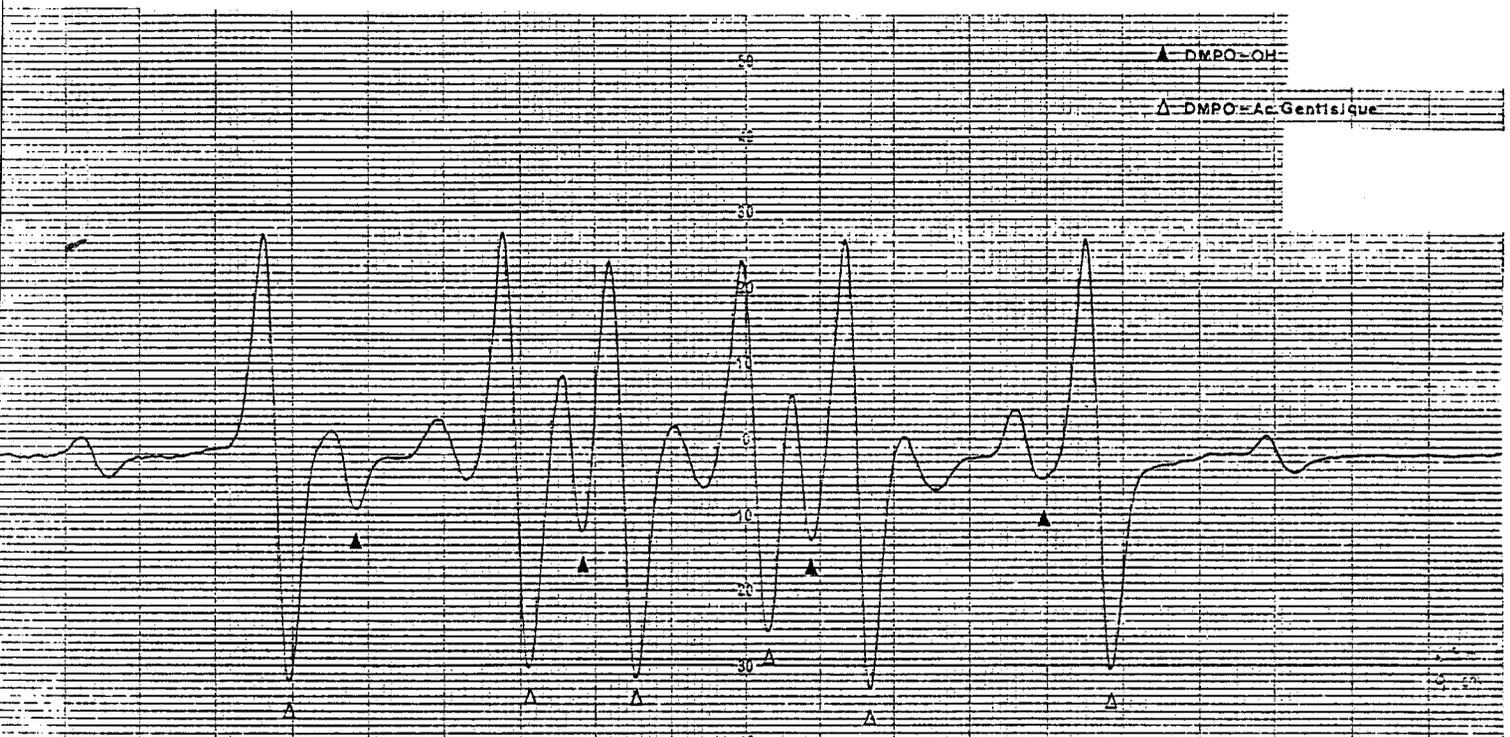
- les composés ne portant pas de fonction acide carboxylique sont de très bons inhibiteurs de radicaux °OH. En effet, le catéchol et les deux trihydroxybenzènes étudiés présentent les valeurs de IC₅₀ les plus faibles,

- il est aussi à noter que les acides trihydroxybenzoïques sont plus actifs que les acides dihydroxybenzoïques (excepté l'acide 3,4-dihydroxybenzoïque).

On pourra remarquer que l'acide gentisique donne les plus mauvais résultats vis-à-vis du piégeage de °OH. Cependant, ce seul test ne suffit pas à caractériser le pouvoir antioxydant d'un composé. Il convient de rappeler que le pouvoir inhibiteur de l'acide salicylique est aussi très

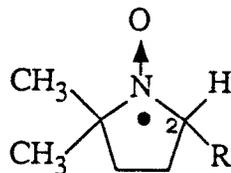
faible par rapport à celui des autres acides bien qu'il constitue l'un des anti-inflammatoires les plus utilisés en thérapeutique.

Lorsque les concentrations en acide gentisique sont élevées, un nouvel adduit est observé. Ce signal est un double triplet de constantes de couplage : $a_N = 15,83$ gauss et $a_H = 22,86$ gauss (spectre 4).



Spectre 4

La valeur de la constante de couplage a_H nous donne des informations sur le type d'atome lié au carbone n°2 du DMPO.



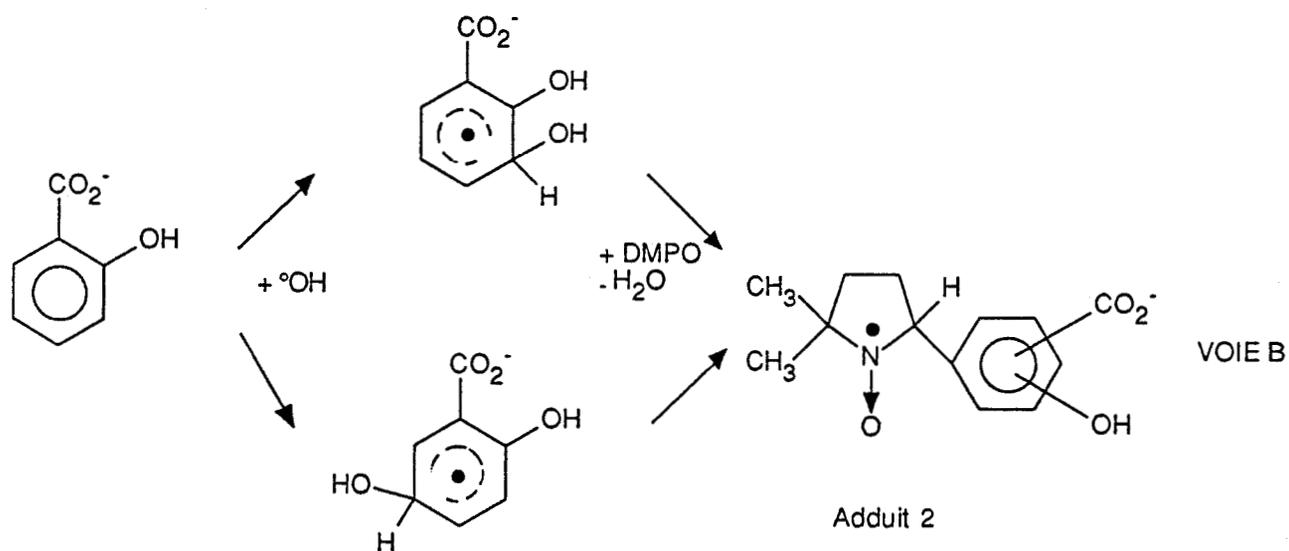
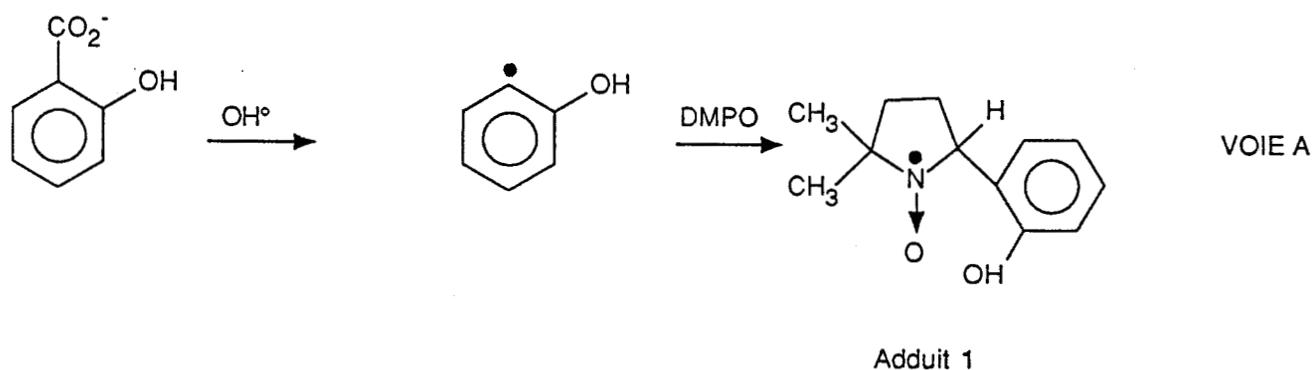
Quand ce dernier est lié à un oxygène, la constante de couplage a_H est beaucoup plus faible que celle que nous observons (8) (par exemple : a_H ($^{\circ}\Phi$ DMPO) = 19,22 gauss).

Par contre, la constante de couplage a_H d'un composé tel que DMPO ($^{\circ}\Phi\text{COO}^-$) est égale à 23,54 gauss (8). Nous pouvons donc conclure que l'atome lié au carbone 2 du DMPO est un atome de carbone.

Plusieurs adduits peuvent être envisagés. En effet, deux réactions peuvent se produire:

a. une décarboxylation en présence de radicaux hydroxyles (voie A) qui conduit à un radical phényle, piégé par le DMPO pour donner l'adduit 1 (2b),

b. une addition du radical hydroxyle pour former un radical cyclohexadiényle (19)(20). Celui-ci peut se réaromatiser par déshydratation puis être piégé par le DMPO donnant ainsi l'adduit 2 (voie B).



REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Troisième partie

- 1 **Dorfman L.M., Bühler R.E. and Taub I.A.**
J. Chem. Phys., 1962, 36, 3051

- 2 a **Dorfman L. M.**
Adv. Chem. Soc., 1968, 81, 222
b **Anbar M., Meyerstein D. and Neta P.**
J. Phys. Chem., 1966, 70, 2660

- 3 a **Dixon W. T. and Norman R. O. C.**
J. Chem. Soc., 1964, 4587
b **Fischer A.**
J. Chem. Phys., 1962, 37, 1094

- 4 **Günther K., Filby W. G. und Eiben K.**
Tetrahedron Letters, 1971, 3, 251

- 5 **Jefcoate C. R. E. and Norman R. O. C.**
J. Chem. Soc. B., 1968, 48

- 6 **Fontecave M. et Pierre J. L.**
Bull. Soc. Chim. Fr., 1991, 128, 505

- 7 **Jadot G.**
Les Superoxydes Dismutases
Ed. Masson, Paris 1988

- 8 **Buettner G. R.**
Free Radical Biol. Med., 1987, 3, 259

- 9 **Terabe S., Kuruma K. and Konaka R.**
J. Chem. Soc. Perkin Trans II, 1973, 1252

- 10 **Evans C. A.**
Aldrichimica Acta, 1979, 12, 23
- 11 **Janzen E. G. and Liu J. I. P.**
J. Mag. Res., 1973, 9, 510
- 12 **Janzen E. G., Evans C. A. and Liu J. I. P.**
J. Mag. Res., 1973, 9, 513
- 13 **Bowman D. F., Gillac C. A. and Ingold K. U.**
J. Am. Chem. Soc., 1971, 93, 6555
- 14 **Forrester R., Hay J. M. and Thomson R. H.**
Organic Chemistry of Stable Free Radicals
Academic Press 1968
- 15 **Janzen E. G., Wang Y. Y. and Shetty R. V.**
J. Am. Chem. Soc., 1978, 100, 2923
- 16 **Janzen E. G., Coulter G. A., Oehler U. and Bergsma J. P.**
Can. J. Chem., 1982, 60, 2725
- 17 **Haseloff R. F., Blasig I. E., Meffert H. and Ebert B.**
Free Radical Biol. Med., 1990, 9, 111
- 18 **Samuni A., Mirali Krishna C., Riesz P., Finkelstein E. and Russo A.**
Free Radical Biol. Med., 1989, 6, 41
- 19 **Maskos Z., Rush J. D. and Koppenol W. H.**
Free Radical Biol. Med., 1990, 8, 153
- 20 **Matthews R. W. and Sangster D. F.**
J. Phys. Chem., 1965, 69, 1936

CONCLUSION

GENERALE

L'ensemble des résultats décrits dans ce mémoire nous amène à formuler un certain nombre de remarques. L'étude de l'autoxydation de l'acide gentisique a été entreprise dans un double but:

- apporter une contribution à l'étude du mécanisme de synthèse d'un modèle humique. Les résultats obtenus à ce niveau nous ont permis de déterminer les conditions les plus favorables à l'obtention d'un modèle riche en oxygène ou en carbone sp^3 . La mise en évidence du radical (tq) rappelant la structure de l'acide homogentisique montre que l'oxydation de l'acide gentisique avec ouverture du cycle aromatique peut se faire en absence d'enzyme. Il suffit en effet d'une élévation progressive de la température jusqu'à 80 °C. Ce point important mériterait d'être approfondie dans une étude plus spécifique incluant éventuellement l'étude de l'autoxydation de l'acide homogentisique.

- rechercher les possibilités d'évolution de l'acide gentisique en tant que métabolite de l'aspirine . Nous avons pu constater, "in vitro", qu'au pH physiologique, l'acide gentisique ne s'oxydait pas en produisant des radicaux semi-quinoniques. Il faut atteindre un pH nettement basique (pH>11) pour observer les premiers phénomènes d'autoxydation. Par contre, en milieu acide, pour un pH inférieur à 5, on constate la formation du 1,2,4-trihydroxybenzène. On pourrait donc envisager facilement la production de ce dérivé " in vivo" dans des milieux légèrement acides. La mesure du pouvoir antioxydant vis à vis du piégeage de °OH a montré la grande activité du 1,2,4-trihydroxybenzène ainsi que du catéchol qui est lui-même un métabolite de l'aspirine. Ces deux produits ont un pouvoir inhibiteur 10 000 fois plus important que l'acide salicylique lui-même. On pourrait dès lors envisager que l'activité antioxydante de l'acide salicylique serait due à ses métabolites : un métabolite primaire , le catéchol, et un métabolite secondaire, le 1,2,4-trihydroxybenzène formé par l'autoxydation de l'acide gentisique. Pour vérifier cette hypothèse, il conviendrait d'effectuer des essais "in vivo".

PARTIE
EXPERIMENTALE

I- SYNTHESSES

Les spectres R.M.N. proton ont été réalisées sur des spectromètres BRUCKER/WP60 et WP80. Les spectres de masse ont été enregistrés sur un spectromètre RIBER MAG R10-10B. Les points de fusion non corrigés ont été déterminés à l'aide d'un microscope REICHERT THERMOPAN. Les abréviations suivantes pour la description des spectres RMN proton ont été employées:

s : singulet
 d : doublet
 t : triplet
 sl : singulet large

A- Synthèse de l'acide 2,4,5-trihydroxybenzoïque (1)

La température de départ de cette manipulation est de -70°C .

Dans un tricol muni d'un réfrigérant surmonté d'une garde à CaCl_2 , d'une ampoule à brome et d'une arrivée d'azote, 32 ml d'une solution de BBr_3 dans le dichlorométhane sont maintenus à -70°C . Une solution de 2 g. d'acide 2,4,5-triméthoxybenzoïque dans 60 ml de CH_2Cl_2 sec est ajoutée goutte à goutte au contenu du ballon sous agitation. Lorsque l'addition est terminée, le mélange peut revenir à la température ambiante et est agité pendant 24 heures.

50 ml d'eau sont ensuite ajoutés pour éliminer les complexes bore-réactif ou bore-produit éventuellement formés. On agite pendant une heure. On extrait avec 3 fois 50 ml d'éther. La phase étherée est séchée sur Na_2SO_4 puis évaporée.

Rendement : 98 % .

Température de fusion : 197°C .

RMN (DMSO-d_6) : 1 s à 6,31 ppm (1H)

1 s à 7,12 ppm (1H)

Masse : 170 (44 %; M^{\oplus})

152 (55%; $\text{M} - \text{H}_2\text{O}$)

124 (13%)

82 (65%)

69 (65%)

53 (100%)

B - Synthèse de l'acide 2,3,6-trihydroxybenzoïque

1- Lithiation du 1,2,4-triméthoxybenzène (2)

La manipulation est réalisée sous azote et un contrôle de la température est indispensable. La température ne peut dépasser 45°C. A une solution de 9 ml de 1,2,4-triméthoxybenzène dans 100 ml d'éther anhydre, sont ajoutés, goutte à goutte, 41 ml d'une solution 1,6 M de n-butyllithium dans l'hexane. Lorsque l'addition est finie, le mélange est chauffé à reflux 2 heures.

2- Formation de l'acide

La solution est refroidie à -50°C (à l'aide d'un mélange acétone-carboglace) et est ensuite versée sur un mélange de 100 g. de carboglace et de 30 ml d'éther anhydre, tout cela sous agitation. La solution revient à température ambiante. 100 ml d'eau sont alors ajoutés. On sépare les deux phases. La phase aqueuse est extraite à l'éther et la phase étherée lavée avec une solution de 10 % en soude. Les phases aqueuses sont regroupées, évaporées pour éliminer l'éther résiduel, refroidies à 5°C et acidifiées avec de l'acide chlorhydrique concentré. Le produit précipite ; il est filtré et lavé avec de l'eau froide.

Rendement : 88 %.

Température de fusion : 142-145 °C

RMN (DMSO_d₆) : 1 s à 3,70 ppm (3H)
 1 s à 3,74 ppm (3H)
 1 s à 3,78 ppm (3H)
 1 d à 6,65 - 6,81 ppm (3J = 9,3 Hz; 1H Ar.)
 6,97 - 7,12 ppm (3J = 8,9 Hz; 1H Ar.)
 1 sl à 12,86 ppm (1 OH)

Masse: 212 (61%; M⁺)
 197 (24%; M - CH₃)
 137 (100%)

3- Déméthylation :

Le mode opératoire est le même que celui de la synthèse de l'acide 2,3,5- trihydroxybenzoïque et les proportions sont aussi identiques.

Rendement : 60 %

Température de fusion : 170°C.

RMN (DMSO_d₆) : 1 sl à 8,27 ppm (4H : COOH, 3 OH)

1 d à 6,97-6,82 ppm (³J = 8,4 Hz; 1H Ar.)

6,30-6,16 ppm (³J = 8,8 Hz; 1H Ar.)

Masse : 170 (52%; M⁺)

152 (100%; M-H₂O)

124 (54%)

96 (52%)

69 (96%)

53 (78%)

C- Synthèse de l'acide 2,3,5-trihydroxybenzoïque

1- Synthèse du 2,3-diméthoxy-5-hydroxybromobenzène:(3)

2,7 g. d'acide *m*-chloroperoxybenzoïque sont ajoutés en une seule fois à une solution de 1,5 g. de bromo-5-vératraldéhyde dans 45 ml de CHCl₃ sec. Le mélange est chauffé à reflux sous azote pendant 45 minutes.

Le mélange refroidi est lavé avec 15 ml d'une solution saturée de NaHSO₃, deux fois avec 15 ml d'une solution 1 M de Na₂CO₃ et une fois avec 15 ml d'eau. La phase organique est séchée sur Na₂SO₄ puis évaporée. Un résidu jaune est ainsi obtenu. Celui-ci est repris dans 22,5 ml de MeOH et dilué avec 37,5 ml d'HCl à 33 %. Le mélange est agité à température ambiante pendant 30 minutes. Une évaporation partielle sous pression réduite fournit un résidu semi solide qui est extrait au chloroforme (3 x 15 ml). Les phases organiques sont lavées à l'eau salée, séchées sur Na₂SO₄ et ensuite évaporées. Le produit est recristallisé dans un mélange hexane-acétate d'éthyle.

Le rendement en produit brut est de 90 % et celui en produit recristallisé de 40 %.

Température de fusion : 134-138°C

RMN (CDCl₃) : 1 d à 6,65-6,61 ppm (⁴J = 2,6 Hz; 1H Ar.)

6,43-6,39 ppm (⁴J = 2,6 Hz; 1H Ar.)

1 sl à 4,59 ppm (1OH)

1 s à 3,8 ppm (6H)

Masse : 232-234(100%; M⁺)
 217-219(87%; M-CH₃)
 189-187 (41%)
 110 (37%)

2- Synthèse du 2,3,5-triméthoxybromobenzène:

A un mélange de 1,4 g. de 2,3-diméthoxy-5-hydroxybromobenzène et d'une solution de 0,5 g. de soude dans 5 ml d'eau, 2 ml de sulfate de diméthyle sont ajoutés goutte à goutte très lentement. Cette addition se fait dans un bain d'eau froide. Quand tout le sulfate de diméthyle est ajouté, le mélange est chauffé à reflux 3 heures pour être ensuite refroidi. 5 ml d'eau lui sont additionnés et on extrait ensuite à l'éther. Les phases organiques sont lavées une fois à l'eau, séchées sur MgSO₄, filtrées et ensuite évaporées.

Le produit est une huile jaune.

Le rendement est de 90 %. La température de fusion est supérieure à 300°C.

RMN (DMSO-d₆) : 1 d à 6,60 - 6,65 ppm (4J = 2,9 Hz; 1H Ar.)

6,69 - 6,73 ppm (4J = 2,8 Hz; 1H Ar.)

1 s à 3,80 ppm (3H)

1 s à 3,72 ppm (3H)

1 s à 3,67 ppm (3H)

3- Synthèse de l'acide 2,3,5-triméthoxybenzoïque :(4)

A un mélange de 1,2 g. de 2,3,5 -triméthoxybromobenzène dans 10 ml d'éther éthylique anhydre, sont ajoutés goutte à goutte 5,2 ml de n- butyllithium en solution dans l'hexane (1,6M). L'addition dure environ 20 minutes. Le mélange réactionnel est agité pendant 30 minutes puis est versé sur 25 g. de carboglace. Quand le mélange est revenu à température ambiante, 10 ml d'eau sont ajoutés. La phase aqueuse est acidifiée et est extraite à l'éther éthylique. La phase organique est séchée sur Na₂SO₄. Après évaporation du solvant, une huile jaune est formée et est recristallisée dans le cyclohexane.

Rendement : 40 %

Température de fusion : 98-102°C

RMN (CDCl₃) : 1 d à 7,22-7,18 ppm (⁴J= 2,9Hz; 1H Ar.)

6,76-6,72 ppm (1H Ar.)

1 s à 4,03 ppm (3H)

1 s à 3,90 ppm (3H)

1 s à 3,84 ppm (3H)

Masse : 212 (86%; M⁺)

197 (100%; M-CH₃)

169 (33%)

137 (47%)

4- Synthèse de l'acide 2,3,5-trihydroxybenzoïque:

Le mode opératoire est le même que celui de la synthèse de l'acide 2,4,5-trihydroxybenzoïque; les proportions sont quant à elles modifiées. En effet, pour 0,065 g. d'acide triméthoxybenzoïque, on utilise 11 ml de BBr₃ en solution dans CH₂Cl₂ (1,6M).

Rendement : 77 %

Température de fusion : 186°C

RMN (DMSOd₆) : 1 d à 6,60-6,55 ppm (⁴J= 2,9 Hz; 1H Ar.)

6,44-6,39 ppm (⁴J= 2,7 Hz; 1H Ar.)

1 sl à 5,69 ppm (4H)

Masse : 170 (42% ; M⁺)

152 (72%; M - H₂O)

124 (39%)

96 (75%)

78 (63%)

69 (58%)

53 (100%)

D -Synthèse de la 2-carboxy-1,4-benzoquinone: (5)

2,5 g. d'acide gentisique sont ajoutés à une suspension de 10,25 g. de sulfate de cérium et ammonium dans 137,5 ml de tétrachlorure de carbone de qualité spectroscopique. La solution est agitée

pendant 2 minutes et filtrée. Le produit ne peut être obtenu qu'en solution ; les manipulations RPE ont été réalisées en solution.

Remarque : La manipulation peut se réaliser dans du chloroforme mais sans stabilisant (ces stabilisants sont souvent des alcools, et ceux-ci parasitent la réaction). De plus, le solvant peut être évaporé mais pas à sec (le produit se décompose).

RMN (CDCl₃) : 1 d à 6,98-6,96 ppm (H5, H6)
 1 t à 7,69 ppm (⁴J= ⁵J= 1,2Hz; H3)
 1 sl à 11 ppm (1H)

E - Synthèse de la 2-carboxy-3-hydroxy-1,4-benzoquinone: (5)

0,8 g. d'acide gentisique sont ajoutés à une suspension de 6,3 g. de sulfate de cérium ammonium dans 60 ml de tétrachlorure de carbone de qualité spectroscopique. Le mélange est agité pendant 45 minutes et ensuite filtré. L'évaporation à sec du solvant permet l'obtention du produit voulu.

Le rendement est de 13 % par rapport à l'acide gentisique et 98% par rapport à l'eau résiduelle contenue dans le tétrachlorure de carbone.

RMN (CDCl₃) : 1 d à 6,96-7,03 ppm (³J = 10,8 Hz; 1 H Ar.)
 1 d à 6,85-6,92 ppm (1 H Ar.)
 1 sl à 11 ppm (2H)

II-SPECTROSCOPIE R.P.E.

La source de radiation est un klystron qui, pour la plupart des spectromètres analytiques, émet dans le domaine de la bande X du spectre de microonde à environ 9,5 GHz, avec une intensité de 150 à 700 mW. Le détecteur de radiation est une diode qui transforme la radiation de microonde en courant électrique continu. L'échantillon est introduit dans une cellule qui est placée dans une cavité résonante disposée entre les pôles d' un électroaimant. Cette cavité ferme l' un des bras d' un T magique ou pont de propagation (qui est l'équivalent en microonde d' un pont d' impédance ou de résistance), si bien que l'absorption de la radiation par l'échantillon provoque un déséquilibre du pont et permet à celle-ci d'atteindre le détecteur. Le spectre est enregistré en maintenant constante la fréquence de microonde et

en balayant lentement le champ magnétique continu. Le spectre résultant est la dérivée première du spectre d'absorption en fonction du champ (du fait de la méthode de détection).

Nos spectres R.P.E. ont été enregistrés sur un appareil VARIAN E 109, fonctionnant en bande X équipé d'un système à température variable et d'une cavité E 238 opérant dans le mode T.M.. Le champ est modulé à 100KHz et la puissance microonde est de 1 mW ou 10 mW.

III - LA VOLTAMMETRIE CYCLIQUE

L'appareillage électronique utilisé pour enregistrer les voltammogrammes était constitué:

- d'une table traçante SEFRAM-TG M.101,
- d'un pilote TPPRT (Tacussel),
- d'un potentiostat type PRT 100-1X (Tacussel),
- d'un millivoltmètre ARIES 20000 (Tacussel).

L'électrode utilisée est une électrode de platine fixe ou tournante d'origine Tacussel (diamètre 2 mm).

IV- PROGRAMMES DE SIMULATION DE SPECTRES ET DES CALCULS MAC LACHLAN

Le programme de simulation de spectres a été inspiré de la publication suivante:

Dehler U.W. and Jansen E.G.

Can.J.Chem., 1982, 60, 1542

L'adaptation de ce programme a été réalisée par M. B. Planckaert.

Le programme de calculs Mac Lachlan a, quant à lui, été inspiré directement de la publication originale de Mac Lachlan (6).

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES :
Partie expérimentale

- 1 **Mac Omie J.F.W., Watts M.L. and West D.E.**
Tetrahedron, 1968, 25, 2289

- 2 **Gilman H. and Thirtle J.R.**
J. Am. Chem. Soc., 1944, 66, 858

- 3 **Sanchez I.H., Larraza M.I., Basurto F., Yanez R., Avila S., Tovar R. and Joseph-Nathan P.**
Tetrahedron, 1985, 41, 2355

- 4 **Kreuchunas A.**
J. Org. Chem., 1956, 21, 910

- 5 **Holmes T.J., John V., Vennerstrom J. and Choi K.E.**
J. Org. Chem., 1984, 49, 4736

- 6 **Mac Lachlan A.D.**
Mol. Phys. , 1960, 3, 233

ANNEXE I

Méthodes de calculs

I- L'EQUATION DE SCHRÖDINGER

Pour obtenir les distributions électroniques à noyaux fixes et les informations associées, l'équation de Schrödinger doit être résolue (1):

$$H \Psi = E \Psi$$

H est l'opérateur hamiltonien (dont l'expression est dérivée de la fonction de Hamilton utilisée en mécanique classique),

E est l'énergie associée à la distribution électronique Ψ^2 ,

Ψ est la fonction d'onde possédant pour variables les coordonnées d'espace et de spin de tous les électrons constitutifs du système étudié.

Ψ est écrite sous la forme :

$$\Psi(1, 2, \dots, i, \dots, n)$$

où i représente les 3 coordonnées d'espace (x, y, z) et la coordonnée de spin de l'électron i.

Pour un électron, la coordonnée de spin peut prendre deux valeurs : +1/2 et -1/2. Des contributions relativistes à l'énergie sont liées à son existence. Elles sont négligées. Cependant, même dans les cas où les effets sur l'énergie peuvent être négligés, la présence de la coordonnée de spin est conservée. En effet, elle est nécessaire pour décrire complètement l'état des différents électrons d'un système moléculaire. L'hamiltonien d'un système de N noyaux et n électrons prend la forme suivante :

$$H = \sum_{i=1}^n H(i) + \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j>i}^n (1/r_{ij}) + \sum_{I=1}^{N-1} \sum_{J>I}^N Z_I Z_J / r_{IJ}$$

Z_I et Z_J étant les charges nucléaires des atomes d'indice I et d'indice J respectivement, H(i) est l'opérateur d'un système qui ne comporterait que le seul électron i dans le champ des N noyaux. H(i) est un opérateur monoélectronique.

$1/r_{ij}$ traduit les répulsions électrostatiques interélectroniques et $1/r_{IJ}$ les répulsions électrostatiques internucléaires.

La solution de l'équation de Schrödinger n'est pas unique ; en effet, il existe plusieurs couples (Ψ^α , E^α).

Ceux-ci correspondent à des états électroniques du système moléculaire et sont associés à des distributions électroniques distinctes. Plusieurs états électroniques peuvent avoir la même énergie ; ils sont alors dits : dégénérés. Parmi les états électroniques, sont distingués l'état fondamental d'énergie minimale et les états excités d'énergie plus élevée.

La résolution de l'équation de Schrödinger n'est possible que dans les cas monoélectroniques élémentaires (H^0 , H_2^+) (2). La raison tient à l'existence des termes de répulsion biélectronique et à la nature polycentrique du champ d'attraction noyaux-électrons.

C'est pourquoi, il est nécessaire de faire une série de simplifications et d'utiliser des techniques par approximations successives employant, en particulier, les méthodes dites des variations et des perturbations (3).

- La **méthode des variations** est basée sur l'équivalence de ces deux équations :

$$H \Psi = E \Psi \quad \text{et} \quad E = \langle \Psi / H / \Psi \rangle / \langle \Psi / \Psi \rangle$$

D'après le théorème de Ritz, si Ψ est fonction de divers paramètres (a_i), le meilleur choix possible pour Ψ est obtenu en minimisant l'énergie E par rapport à chacun de ses paramètres ($\delta E / \delta a_i = 0$).

Donc, en adoptant une fonction paramétrée $f(a_i)$, le meilleur choix des paramètres a_i est tel que l'expression (1) soit minimale par rapport à l'ensemble des a_i .

$$E_{f(a_i)} = \langle f(a_i) / H / f(a_i) \rangle / \langle f(a_i) / f(a_i) \rangle \quad (1)$$

L'équation différentielle s'est transformée en une recherche d'un jeu optimal de paramètres dans une expression analytique.

- la **méthode des perturbations** présuppose la connaissance des fonctions d'onde Ψ_0^α d'un système de référence (voisin du système étudié) et dont l'hamiltonien est H_0 . Comme le système étudié diffère du système de référence par une faible modification des forces (ou perturbation), l'hamiltonien peut s'écrire :

$$H = H_0 + V$$

Les fonctions recherchées s'expriment, à ce moment, sous la forme de développement en série sur les fonctions Ψ_0^α , solutions du système de référence. La détermination d'expression du type (2) est nécessaire.

$$\langle \Psi_0^\alpha / V / \Psi_0^\alpha \rangle \quad (2)$$

La rapidité de la convergence de ces méthodes dépend fortement du choix des fonctions de base, c'est-à-dire des fonctions utilisées pour construire f ou les fonctions Ψ_0^α .

II- SIMPLIFICATION DE LA FONCTION D'ONDE

A- Produit simple de fonctions monoélectroniques :

La fonction d'onde Ψ est une fonction des coordonnées d'espace et de spin des n électrons étudiés :

$$\Psi = \Psi(1,2,\dots,i,\dots,n)$$

Si le mouvement de l'électron i est indépendant de celui des autres électrons, les propriétés de i seraient déterminées en fixant le mouvement des autres électrons. L'équation de Schrödinger deviendrait une équation monoélectronique :

$$H_i \Psi = E_i \Psi$$

dont la solution Ψ serait :

$$\Psi(1,2,\dots,i,\dots,n) = \Psi(1,2,\dots,i-1,i+1,\dots,n) * f(i)$$

Donc, la fonction d'onde totale se mettrait sous la forme :

$$\Psi(1,2,\dots,i,\dots,n) = \prod_i f_i(i) \quad \text{I}$$

Mais, les mouvements d'électrons sont corrélés (il ne faut pas oublier que la répulsion électrostatique interélectronique existe). L'adoption de l'équation I constitue une approximation importante. Cependant, celle-ci est souvent utilisée parce qu'elle simplifie les calculs, qu'elle est une bonne base de départ et qu'aucune impossibilité théorique ne s'oppose à progresser vers la solution exacte à partir de ce point initial. Cette approximation séparant les variables électroniques s'appelle **approximation orbitale**.

f_i se présente sous la forme :

$$f_i = \varphi_i \sigma_i$$

où φ_i est appelée **orbitale** et ne fait apparaître que les coordonnées d'espace,
 σ_i ne fait apparaître que les coordonnées de spin,
 f_i est appelée **spin orbitale**.

B- Produit antisymétrisé de fonctions monoélectroniques

La description de l'ensemble des électrons doit obéir à certaines lois physiques imposées par la nature de ces particules.

1- Les électrons sont indiscernables c'est-à-dire qu'un électron particulier ne peut être attribué à une spin orbitale précise. Par exemple, pour un système à deux électrons 1 et 2, les descriptions :

$$\Psi(1,2) = f_a(1) f_b(2)$$

ou

$$\Psi'(1,2) = f_a(2) f_b(1)$$

ne conviennent pas puisqu'on impose à chaque électron l'occupation d'une spin-orbitale déterminée, les rendant discernables par leur distribution spatiale.

Par contre, les fonctions :

$$F(1,2) = \Psi + \Psi'$$

et

$$G(1,2) = \Psi - \Psi'$$

sont satisfaisantes au regard de la loi d'indiscernabilité des électrons.

2- Comme les électrons sont des fermions (4), toute fonction de plusieurs électrons : $A(1, 2, \dots, i, \dots, j, \dots, n)$ doit être antisymétrique par rapport à la permutation des couples (i,j) :

$$A(1, 2, \dots, i, \dots, j, \dots, n) = -A(1, 2, \dots, j, \dots, i, \dots, n)$$

Pour un système à deux électrons, la solution la plus simple est de prendre comme fonction A la fonction G précédemment décrite :

$$G(1,2) = f_a(1) f_b(2) - f_a(2) f_b(1)$$

Considérons maintenant un système à n électrons. A partir d'une seule fonction produit de spin-orbitales, toutes les permutations possibles des différents couples d'électrons doivent être envisagées. Sont alors engendrées les fonctions dont la combinaison linéaire permet de décrire ce système de fermions. Cette combinaison peut s'écrire sous la forme d'un déterminant appelé le **déterminant de Slater**.

$$A(1, 2, \dots, i, \dots, j, \dots, n) = 1/(n!)^{1/2} \begin{vmatrix} f_1(1) & f_2(1) & \dots & f_n(1) \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ f_1(n) & f_2(n) & \dots & f_n(n) \end{vmatrix}$$

Si le déterminant de Slater représente une fonction physiquement satisfaisante et une bonne approximation de la fonction réelle, les systèmes sont dits à **couches complètes** (c'est-à-dire quand toutes les spins-orbitales peuvent être groupées par paire. Pour chaque paire, la partie spatiale (l'orbitale) est identique et les fonctions de spin sont opposées). Dans le cas contraire, les systèmes sont dits à **couches ouvertes**. Une configuration est bâtie à partir d'un certain jeu de spins-orbitales. Si le nombre de spins-orbitales obtenues par calcul est supérieur au nombre d'électrons, plusieurs configurations peuvent être construites à partir de ce jeu. Elles vont se différencier par le choix des spins-orbitales présentes dans le déterminant de Slater ; celles-ci seront dites **spins-orbitales occupées** ; les autres sont dites **vaccantes**.

C- Combinaison linéaire des déterminants de Slater :

L'antisymétrisation de la fonction d'onde a pour effet d'interdire à deux électrons de même spin de se trouver dans le même volume élémentaire. Considérons un système à deux électrons : quand les électrons 1 et 2 ont des coordonnées d'espace identiques (c'est-à-dire : $\varphi_b(1) = \varphi_b(2)$), la fonction d'onde devient :

$$G_0(1,2) = \varphi_a(1) \varphi_b(1) \{ \sigma_a(1) \sigma_b(2) - \sigma_a(2) \sigma_b(1) \}$$

$G_0(1,2)$ est nul si les fonctions σ_a et σ_b sont identiques (donc les spins de 1 et 2 sont parallèles). Pour les spins anti-parallèles, $G_0(1,2)$ n'est nul que si, au point où se trouvent les deux électrons, $\varphi_a(1)$ ou $\varphi_b(1)$ est nul. Un électron est ainsi entouré d'un volume élémentaire, nommé **volume de contact**, à l'intérieur duquel aucun autre électron ayant le même spin que lui ne peut se trouver.

Pour considérer la corrélation des mouvements d'électrons de spin distinct, on introduit une flexibilité supplémentaire dans la fonction d'onde en vue de diminuer les possibilités qu'ont deux électrons de spins antiparallèles de se trouver dans un même volume élémentaire. La fonction d'onde est donc développée sur une ensemble de déterminants de Slater représentant plusieurs configurations du système. Celles-ci peuvent être obtenues :

-soit à partir d'une configuration de base par promotion d'un ou deux électrons des orbitales occupées vers les orbitales vaccantes (**méthodes d'interaction de configuration ou méthodes SCF-CI**)

- soit directement par détermination simultanée des spin-orbitales de chaque déterminant et de son coefficient dans la combinaison linéaire (méthode MC-SCF)

III- SIMPLIFICATION DE L'HAMILTONIEN

Approximation de l'opérateur effectif :

On estime que les répulsions biélectroniques, dont est l'objet un électron i de la part d'un ensemble d'électrons (j,k) , varient, dans les différents cas où la situation de l'électron i étudiée, de manière négligeable au point d'être assimilables à une constante ou ne dépendent que des coordonnées de l'électron i . Les termes $1/r_{ik}$ correspondant transforment en opérateurs monoélectroniques $H_{rep}(i)$. Ceux-ci montrent l'influence moyenne des électrons (j,k) sur les propriétés de l'électron i .

Le cas limite de cette simplification de l'hamiltonien est atteint quand on suppose que chaque électron i n'est en interaction avec un autre électron. Un opérateur simplifié monoélectronique apparaît alors :

$$H_{eff} = H(i) + H_{rep}(i)$$

$H_{eff}(i)$ est l'hamiltonien effectif ; il se limite à traduire les effets physiques des interactions sans les représenter analytiquement dans leurs détails.

IV- LES EQUATIONS DE HARTREE - FOCK⁽⁵⁹⁾

La minimisation de l'énergie associée à la configuration choisie conduit à une série d'équations monoélectroniques.

$$F(i) f_a(i) = \epsilon_a f_a(i)$$

$F(i)$ est l'opérateur monoélectronique appelé **opérateur de Fock**. $f_a(i)$ est l'orbitale moléculaire et ϵ_a l'énergie associée à cette orbitale.

Dans le cas des systèmes à couches fermées, l'opérateur de Fock a pour expression :

$$F(i) = H(i) + \sum_b \{ 2 J_b(i) - K_b(i) \}$$

b étant l'indice des orbitales occupées,

H(i) est l'opérateur monoélectronique,

J_b(i) est l'opérateur coulombien,

K_b(i) est l'opérateur d'échange.

Par définition,

$$J_b(1) f_a(1) = \int f_b(2) (1/r_{12}) f_b(2) dv_2 \quad * f_a(1)$$

$$K_b(1) f_a(1) = \int f_a(2) (1/r_{12}) f_b(2) dv_2 \quad * f_b(2)$$

ou

$$J_{ab} = \langle f_a / J_b / f_a \rangle$$

$$K_{ab} = \langle f_a / K_b / f_a \rangle$$

$$H_{aa} = \langle f_a / H / f_a \rangle$$

ϵ_a a l'expression suivante :

$$\epsilon_a = H_{aa} + \sum_b (2 J_{ab} - K_{ab})$$

L'énergie totale se met sous la forme :

$$E = \sum_a 2 \epsilon_a - \sum_a \sum_b (2 J_{ab} - K_{ab})$$

J_{ab} et K_{ab} représentant les répulsions électrostatiques entre deux distributions électrostatiques de densité volumique f_a² et f_b² pour J_{ab} et f_a f_b et f_a f_b pour K_{ab}.

J_{ab} représente la répulsion électrostatique moyenne entre les deux électrons 1 et 2 dont les mouvements seraient indépendants et dont les fonctions d'onde seraient f_a et f_b, K_{ab} est le terme correctif dû au fait que l'antisymétrisation de la fonction réintroduit la corrélation des électrons à spins parallèles. K_{ab} traduit le principe de Pauli, qui, rappelons-le, dit que deux électrons ayant le même spin ne peuvent se trouver au même moment au même endroit.

Les équations de Hartree-Fock transforment un problème polyélectronique en une somme de problèmes monoélectroniques. La détermination des orbitales n'est pas toujours accomplie à ce stade. Plusieurs directions sont envisageables.

1- Pour construire les déterminants de Slater, des orbitales de chaque atome sont utilisées sans permettre le mélange d'orbitales atomiques de deux atomes différents (c'est la **méthode de valence de la liaison (VB)**).

2- Chaque orbitale moléculaire est exprimée comme combinaison linéaire des orbitales atomiques de tous les atomes constitutifs :

$$\varphi_i = \sum_q c_{iq} \chi_q \quad (\text{Théorie LCAO})$$

Dans ce cas, les équations de Hartree-Fock se transforment en un système d'équations non linéaires couplées : les équations de Roothaan (60).

Pour un système à couches complètes, ces équations ont la forme suivante :

$$0 = \sum_q c_{iq} \{ H_{pq} + \sum_j \text{occ} \sum_r \sum_s c_{jr} c_{js} (2(pq/rs) - (pr/qs)) - \varepsilon_i S_{pq} \}$$

$$H_{pq} = \langle \chi_p / H / \chi_q \rangle$$

$$(pq/rs) = \langle p(1) q(1) / (1/r_{12}) / r(2) s(2) \rangle$$

Si les termes c_{jr} et c_{js} intervenant dans l'équation sont considérés comme des paramètres et les termes c_{iq} comme les seules inconnues, ce système d'équations devient linéaire. Nous avons une résolution numérique itérative (dite autocohérente ou SCF) où partant d'un jeu de valeurs d'essai C^0_{iq} pour l'ensemble coefficients, on aboutit à un nouveau jeu de valeurs C^1_{iq} par la résolution des équations :

$$0 = \sum_q C^1_{iq} \{ H_{pq} + \sum_j \sum_r \sum_s C^0_{jr} C^0_{js} (2(pq/rs) - (pr/qs)) - \varepsilon_i S_{pq} \}$$

Cette procédure sera répétée en utilisant ce nouveau jeu de coefficients comme valeur d'essai et ceci autant de fois que nécessaire pour que la différence entre les énergies totales E_i et E_{i+1} , obtenues les $i^{\text{ème}}$ et $(i+1)^{\text{ème}}$ fois, devienne inférieure à un seuil librement fixé. Ce seuil devra être assez bas pour obtenir une convergence significative de processus itératif non seulement sur l'énergie totale mais aussi sur la fonction d'onde.

V- LES DIFFERENTES METHODES

Nous sommes dans le cadre de l'approximation orbitalaire. Chaque orbitale moléculaire sera développée sur une base d'orbitales atomiques (théorie LCAO). La description est plus aisée.

A-La méthode de Hückel simple(7)(8)(9)

Cette méthode s'applique au système Π des molécules insaturées. Elle utilise l'approximation de l'hamiltonien effectif monoélectrique. La fonction d'onde totale est un simple produit de spin - orbitales.

$$\Psi(1,2,\dots,n) = \prod_i f_i(i)$$

Chaque atome n'intervient que par une seule orbitale 2p notée χ_i . L'hamiltonien effectif est déterminé par les valeurs des paramètres H_{ii} et H_{ij} sélectionnés par l'utilisateur.

$$H_{ii} = \langle \chi_i | H | \chi_i \rangle$$

$$H_{ij} = \langle \chi_i | H | \chi_j \rangle$$

Dans sa version la plus simple (hydrocarbures conjugués), tous les termes H_{ii} ont une valeur commune α et tous les termes H_{ij} des valeurs communes, β ou 0, selon que les atomes i et j sont ou ne sont pas liés au niveau du squelette.

Cette méthode, dont la mise en oeuvre se limite à la résolution d'un système d'équations linéaires couplées, ne permet qu'une description qualitative des orbitales moléculaires et de leur énergie relative.

La méthode de Hückel est une méthode topologique où seul l'enchaînement des atomes est considéré. La géométrie n'est donc pas introduite. Les répulsions electron - electron ne sont pas prises en compte (c'est une méthode non auto - cohérente).

Cette méthode comporte deux défauts :

- *une séparation de charges exagérée,
- *le fait de négliger la répulsion électronique conduit à surestimer la stabilité des anions et à sous - estimer l'électrophilie des cations,
- *de plus, elle ne permet pas d'expliquer les valeurs négatives des densités de spin.

B- Extension de la méthode de Hückel (EHT) (10)(11)

Dans le même cadre d'approximation que celui de la méthode de Hückel, elle traite l'ensemble des électrons de valence de l'édifice chimique envisagé. Les termes H_{ij} sont déterminés à partir des valeurs des paramètres H_{ii} , H_{jj} et des recouvrements S_{ij} entre les orbitales χ_i et χ_j .

L'approximation la plus utilisée est celle de Wolsberg - Helmholtz :

$$H_{ij} = k \cdot S_{ij} (H_{ii} + H_{jj})$$

Ces recouvrements sont calculés (numériquement) à partir de l'expression analytique des orbitales atomiques. Plusieurs orbitales atomiques peuvent être centrées sur le même atome et peuvent être de nature s, p, d ou f. Les choix relatifs aux paramètres H_{ii} et aux exposants des orbitales de Slater sont guidés par les résultats obtenus sur des systèmes modèles pour diverses variations des valeurs de ces paramètres. Ceux-ci, attachés à un atome de nature donnée, sont transférables quel que soit le système moléculaire dans lequel ce dernier est engagé.

L'extension s'est avérée nécessaire pour l'étude de molécules où le système Π peut perturber le système σ (état d'hyperconjugaison) (12) interdisant ainsi la séparation σ / Π utilisée précédemment. Cette méthode permet de traiter des systèmes allant des molécules diatomiques jusqu'aux systèmes moléculaires de grande dimension.

Les informations fournies par cette méthode sont :

- *une description qualitative des orbitales moléculaires,
- *une description approchée de leurs énergies relatives.

Elle met clairement en évidence l'influence des propriétés locales de symétrie des atomes sur les propriétés des édifices moléculaires.

En résumé, le recouvrement est introduit et on tient compte de la géométrie et du squelette (C'est une méthode semi - empirique (elle utilise des paramètres ajustables) et auto - cohérente).

C- Les méthodes semi - empiriques (13)

L'ensemble de ces méthodes utilisent le formalisme Hartree - Fock dans le cadre de la théorie LCAO. Elles conduisent en conséquence aux équations de Roothaan. Les méthodes les plus connues sont dénommées sous forme de sigle : CNDO (14)(15)(16), INDO (17), MINDO (18),....

Elles possèdent toutes un point essentiel en commun qui est de négliger un certain nombre de termes biélectroniques contenus dans l'opérateur de Fock. Cette approximation est dite d'annulation, partielle ou totale, de recouvrement diatomique différentiel (19) ("CNDO" ou "INDO" : "Complete" ou "Intermediaire Neglect of Differential Overlap").

Les équations de Hartree - Fock - Roothaan se présentent sous la forme :

$$0 = \sum_q C_{iq} \{ H_{pq} + \sum_j \sum_r \sum_s C_{jr} C_{js} (2(pq/rs) - (pr/qs)) - \epsilon_i S_{pq} \}$$

Les termes (pq/rs) sont en nombre très élevé ($m^2(m+1)^2/8$ pour m orbitales atomiques) mais beaucoup d'entre eux ont des valeurs proches de zéro.

L'idée de base de ces méthodes semi-empiriques est, non pas de déterminer quels sont les termes biélectroniques (pq-rs) qui sont négligeables, mais de fixer de manière systématique ceux considérés comme tels. Les critères d'annulation de ces termes (pq/rs) reposent sur le choix d'annulation du recouvrement différentiel (pq). La distinction entre les différentes méthodes semi-empiriques tient aux différences dans ce choix. Par exemple, dans la méthode CNDO, (pq) est nul si p est différent de q alors que dans la méthode INDO, (pq) est nul si p et q sont centrés sur des atomes différents.

L'approximation utilisée est celle de l'hamiltonien effectif. Celui-ci ne traite de manière explicite que les électrons de valence. Les différents éléments de cet hamiltonien sont déterminés en employant des formules simplifiées des H_{pq} , J_{pq} , K_{pq} dans lesquels les résultats de certaines parties de calculs numériques sont remplacés par des paramètres. Le jeu de valeurs de ces paramètres est fixé une fois pour toutes en cherchant, sur un ensemble de composés de référence, à reproduire avec un écart type minimal certaines propriétés expérimentales qui leur sont propres (telles la chaleur de formation, les longueurs et angles de liaison, le moment dipolaire,...)

La rapidité de ces méthodes (19,20) pour donner des informations relativement élaborées sur des composés est un de leurs attraits principaux. Elles permettent aussi de connaître des propriétés qui s'apparentent aux composés et aux propriétés de référence ayant servi à la paramétrisation.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES
Annexe 1

- 1 **Schrödinger E.**
Ann. Physik, 1926, 79, 361

- 2 **Burrau O.**
Klg. Danske videnskab. Selskab., 1927, 7, 1

- 3 **Dewar M.J.S.**
The Molecular Orbital Theory of Organic Chemistry
Ed. Mac Graw - Hill 1969 (p. 36)

- 4 **Cohen - Tannoudfi C., Liu B. et Laloë F.**
Mécanique Quantique
Ed. Herman 1973

- 5 a **Dewar M.J.S.**
The Molecular Orbital Theory of Organic Chemistry
Ed. Mac Graw - Hill 1969 (p. 32 et 37)
b **Parr R.G.**
The Quantum Theory of Molecular Electronic Structure
Ed. Benjamin 1964

- 6 **Roothaan C.C.J.**
Rev. Mod. Phys., 1951, 23, 1969

- 7 **Hückel E.**
Z. Physik, 1931, 70, 310

- 8 **Hückel E.**
Z. Physik, 1932, 72, 310

- 9 **Hückel E.**
Z. Physik, 1932, 76, 628

10 Hoffmann R.

J. Chem. Phys., 1963, 39, 1397

11 Hoffmann R.

J. Chem. Phys., 1964, 40, 2474

12 Libit L. and Hoffmann R.

J. Am. Chem. Soc., 1974, 96, 1370

13 Slater J.C.

The Self Consistent Field for Molecules and Solids

Ed. Mac Graw - Hill 1970

14 Del Bene J. and Jaffe J.A.

J. Chem. Phys., 1968, 48, 1807

15 Del Bene J. and Jaffe J.A.

J. Chem. Phys., 1968, 49, 1221

16 Pople J.A., Beveridge D.L. and Dobosh P.A.

J. Chem. Phys., 1967, 47, 2026

17 Par exemple :

Bavid N.C. and Dewar M.J.S.

J. Chem. Phys., 1969, 50, 1262

18 Klopman G. and Evans R.C.

Modern Theoretical Chemistry Vol. 7

Ed. Plenum Press 1977

19 Halgren T.A., Kleier D.A., Hall J.H., Brown L.D. and Lipscomb W.N.

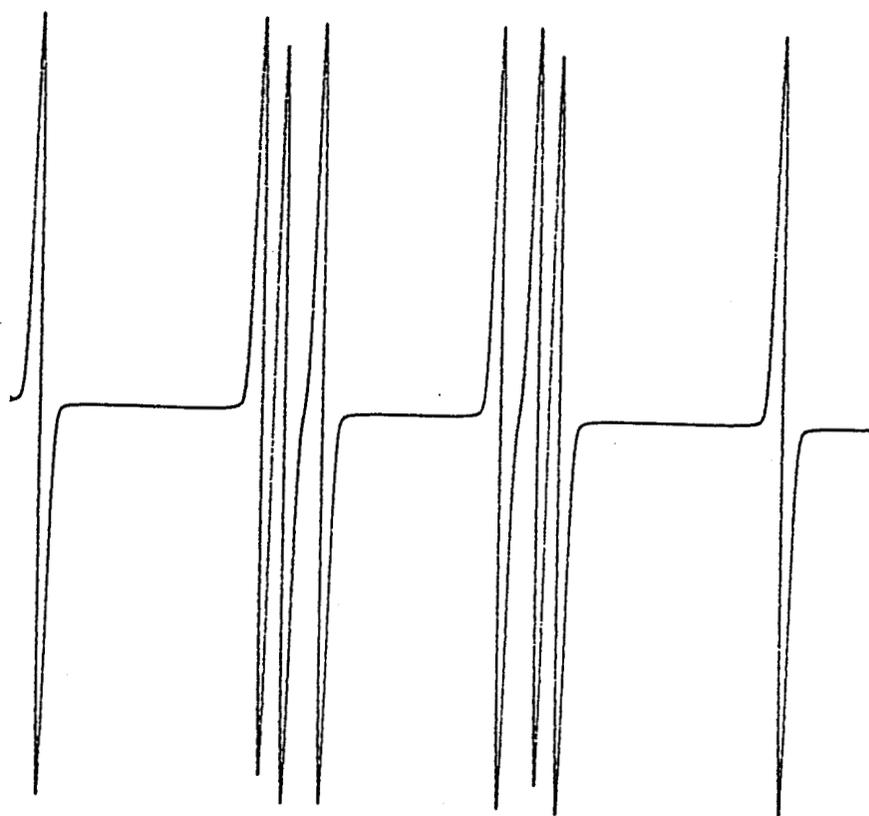
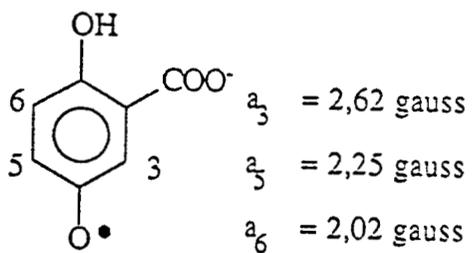
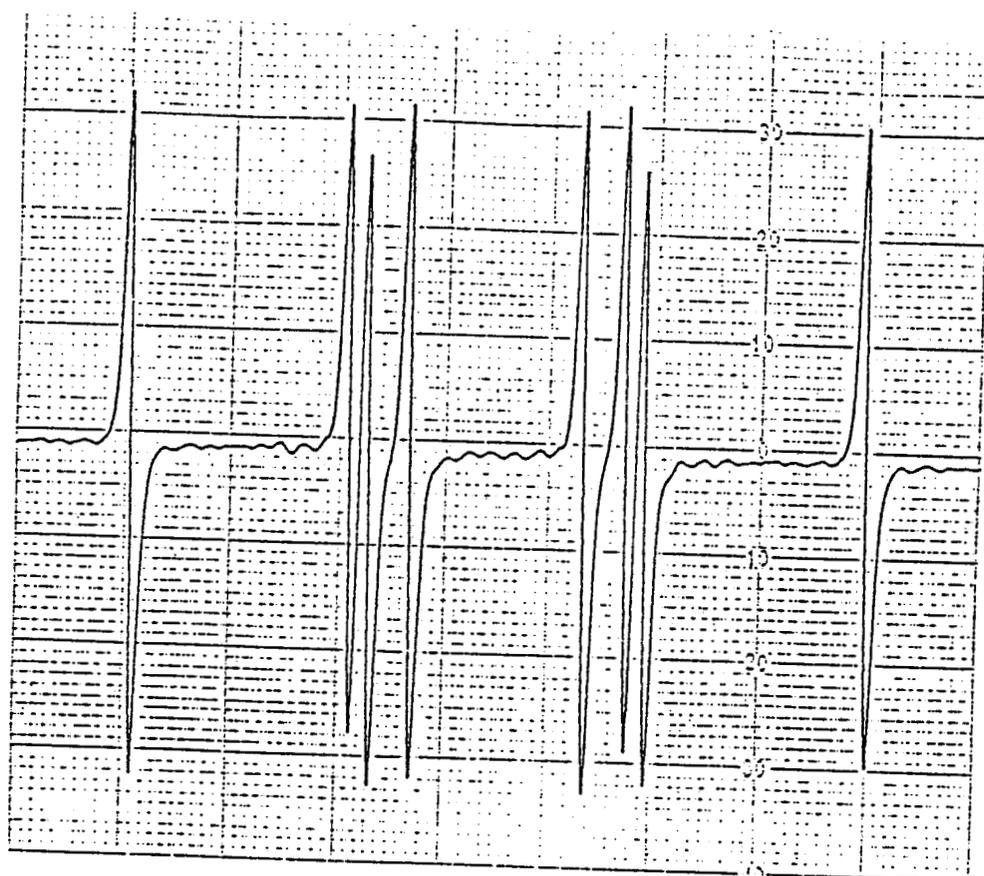
J. Am. Chem. Soc., 1978, 100, 6395

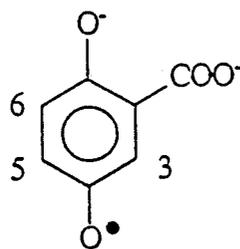
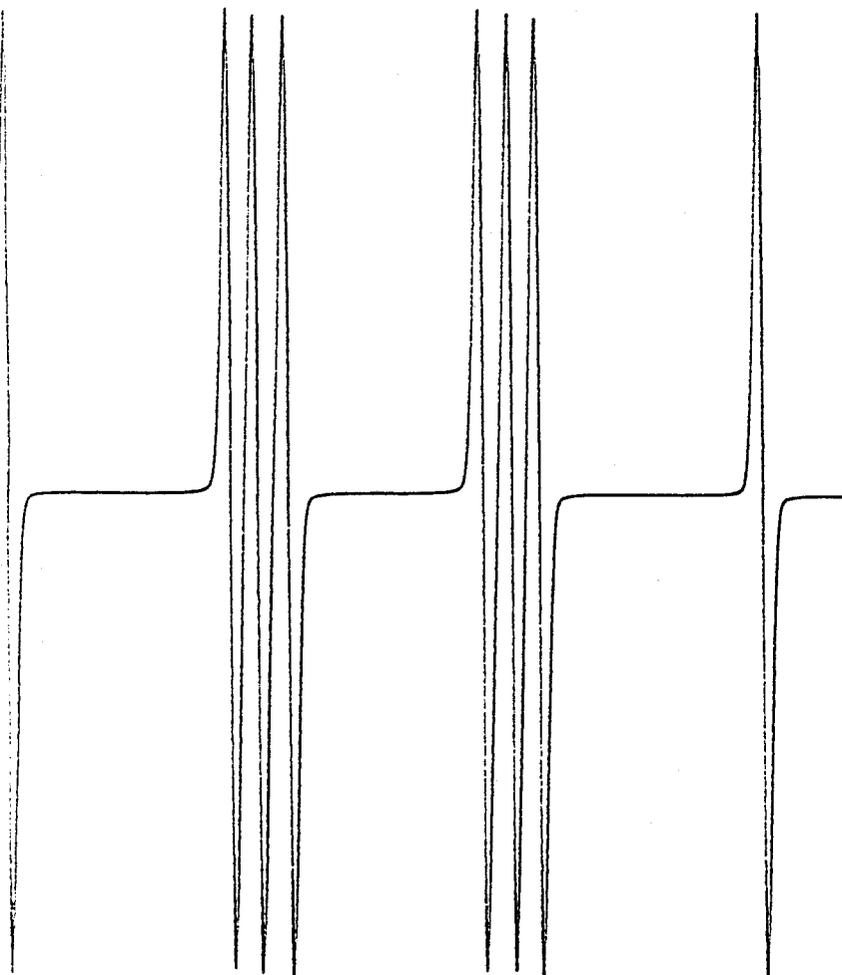
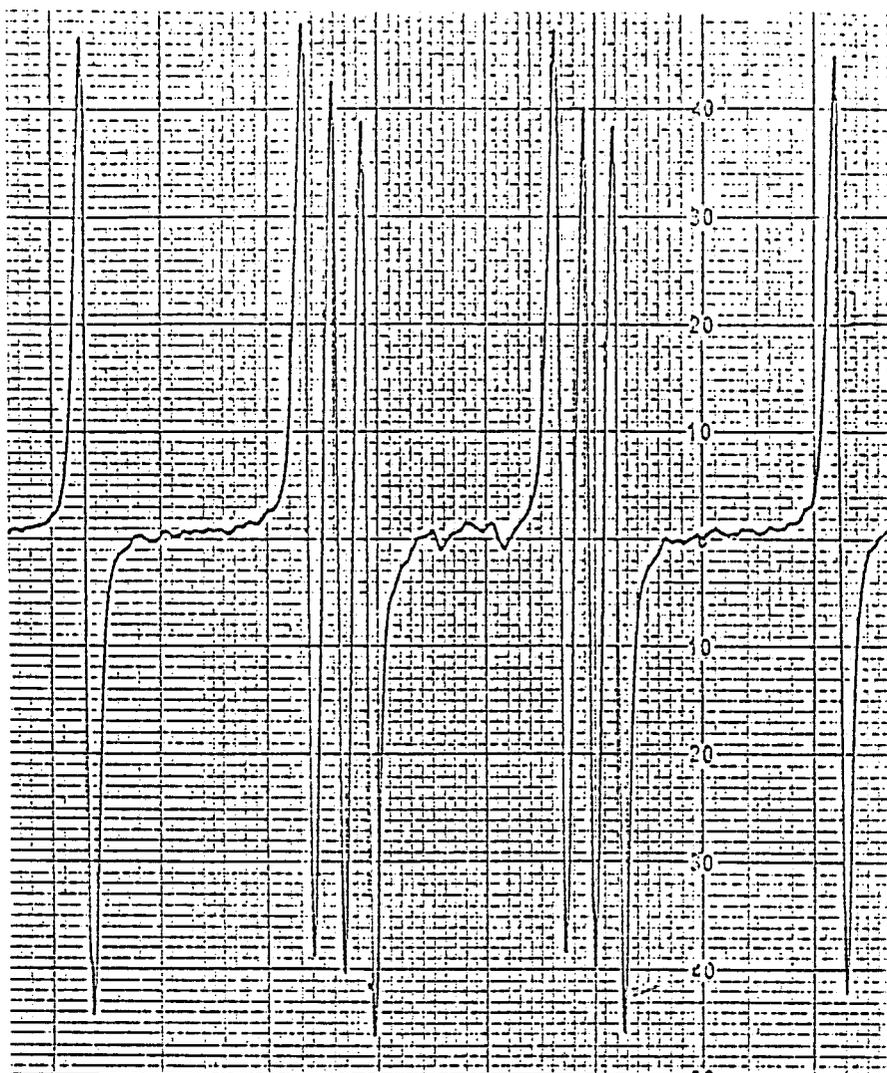
20 Dewar M.J.S. and Ford G.P.

J. Am. Chem. Soc., 1979, 101, 5558

ANNEXE II

Spectres R.P.E.

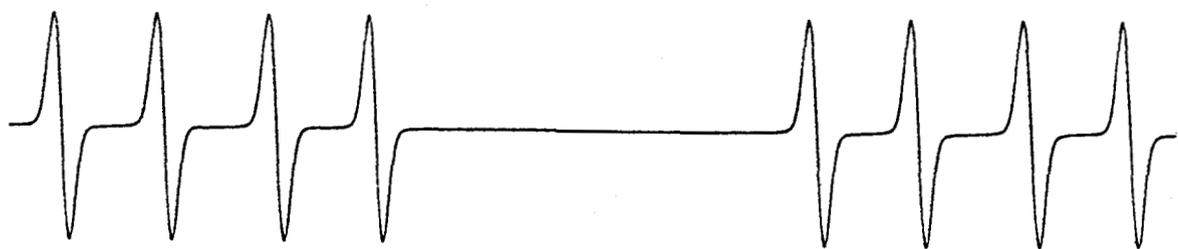
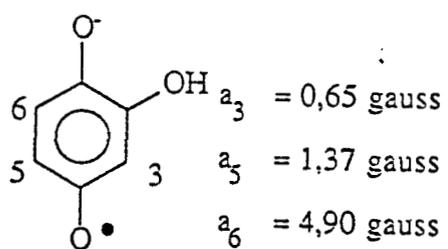
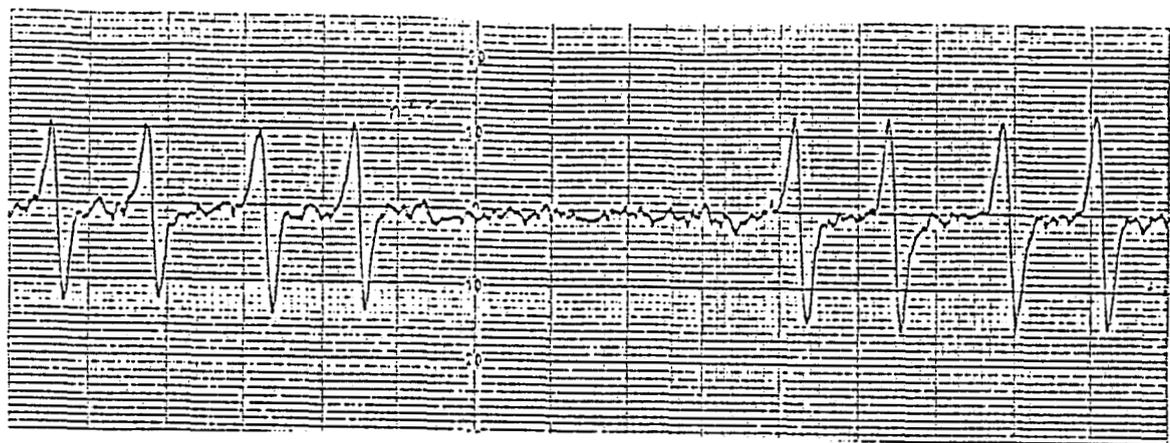


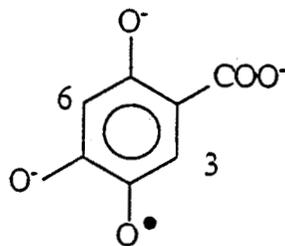
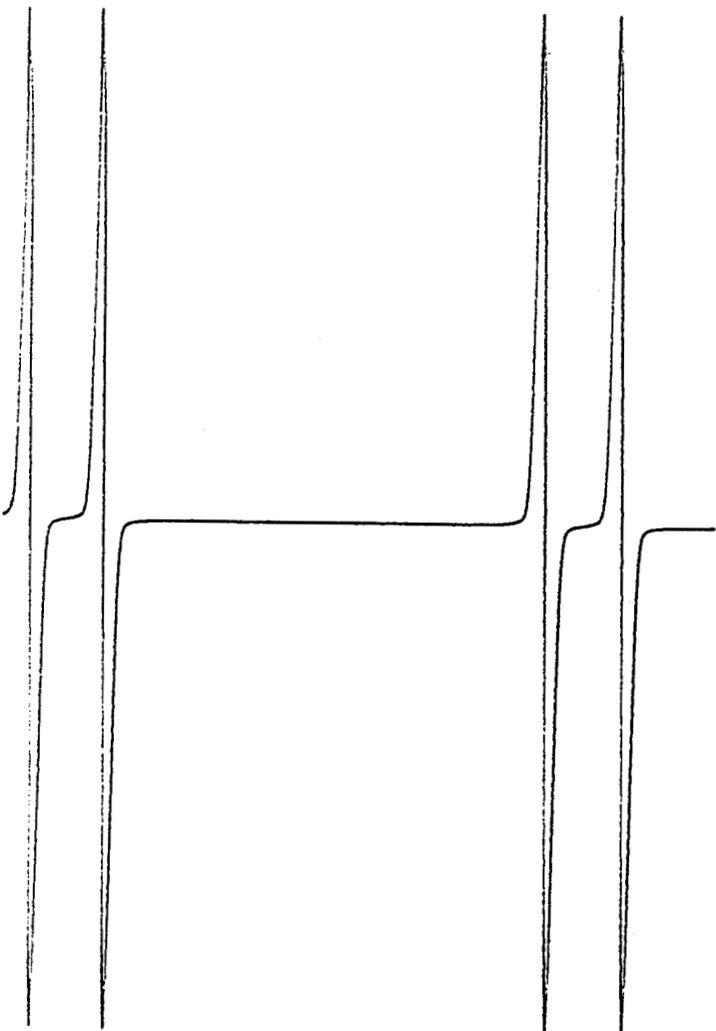
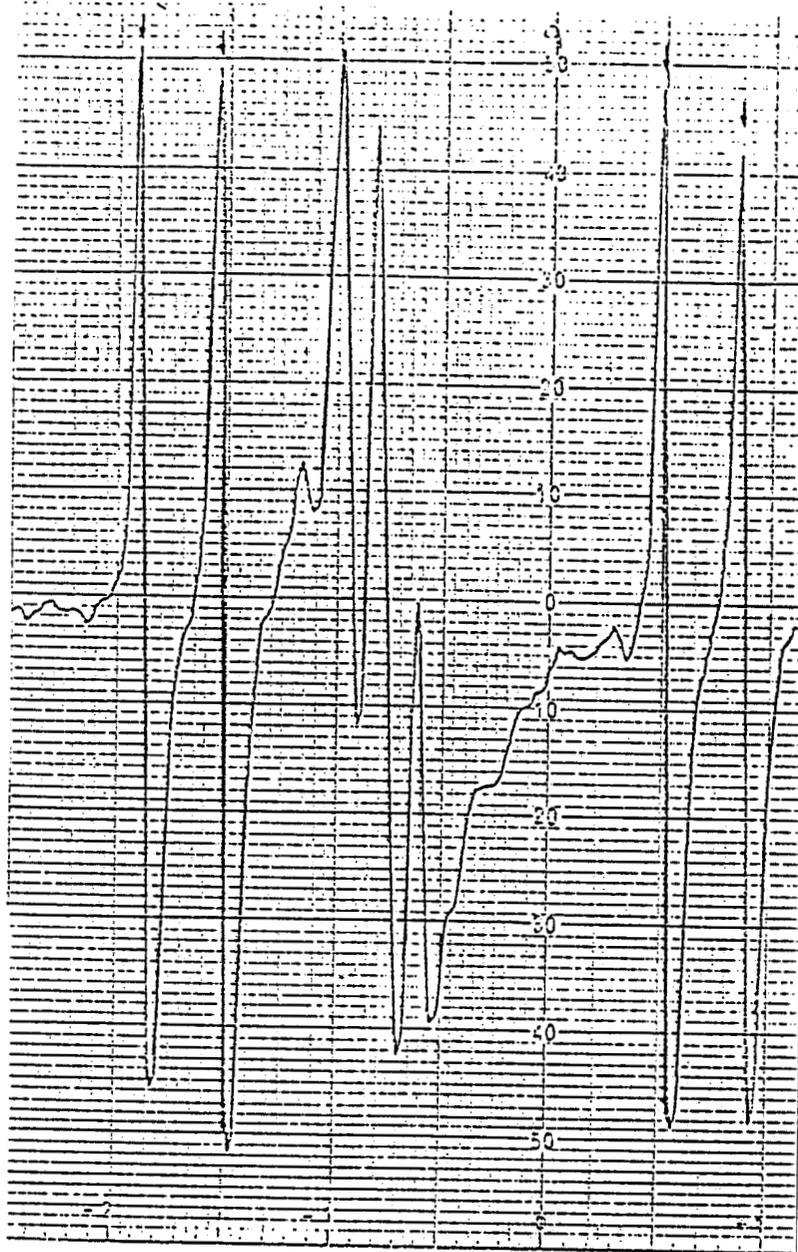


$$a_3 = 2,57 \text{ gauss}$$

$$a_5 = 2,05 \text{ gauss}$$

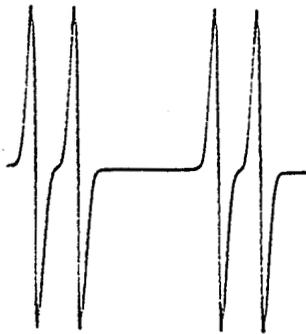
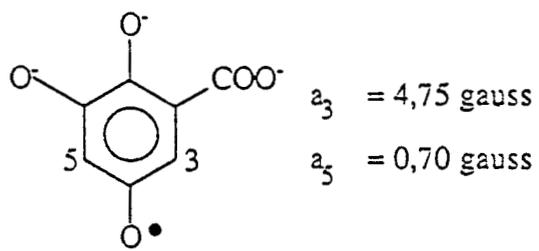
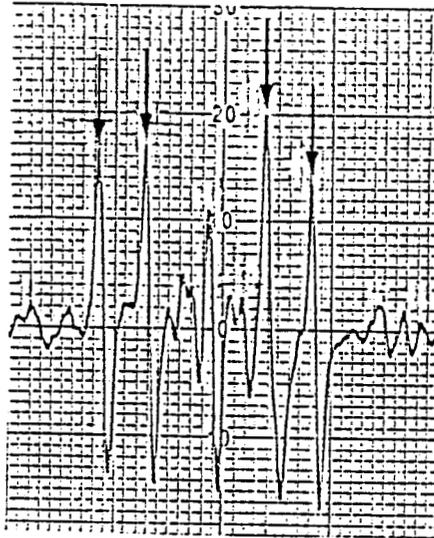
$$a_6 = 2,02 \text{ gauss}$$

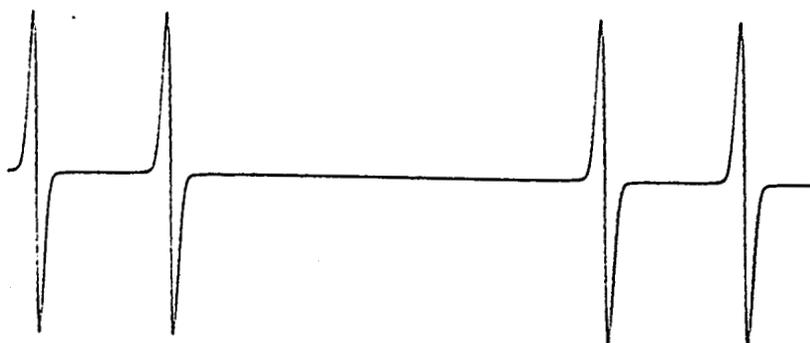
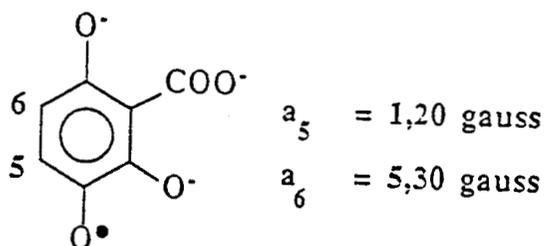
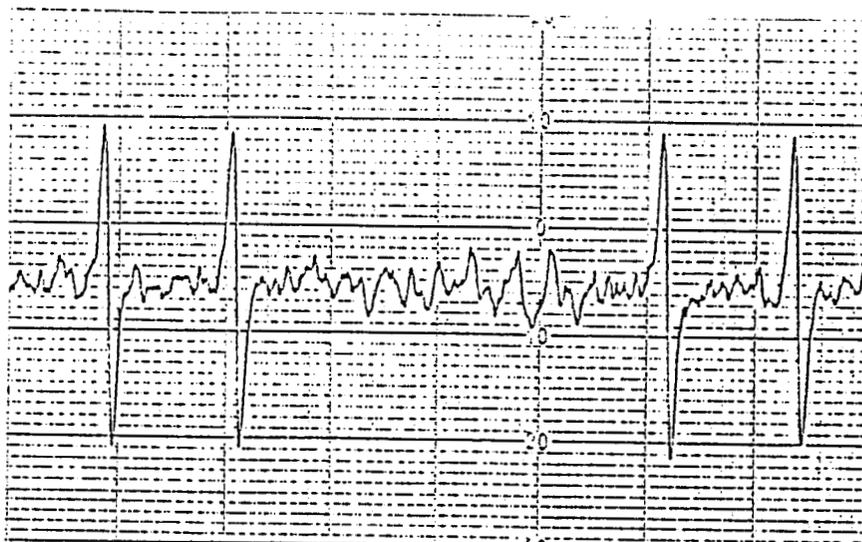


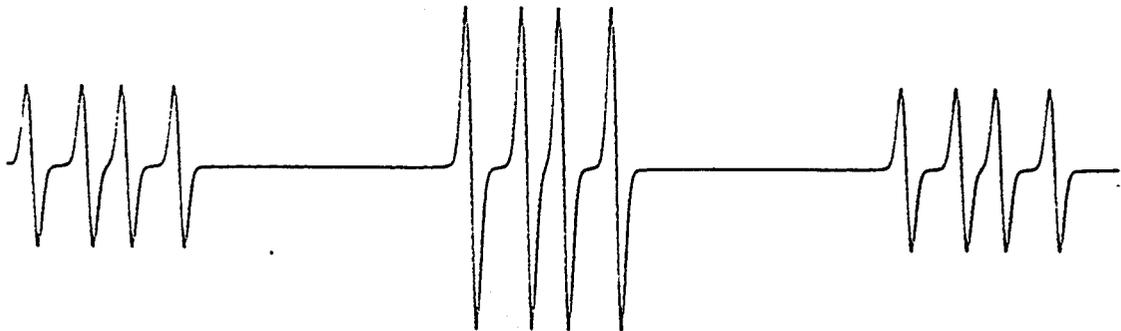
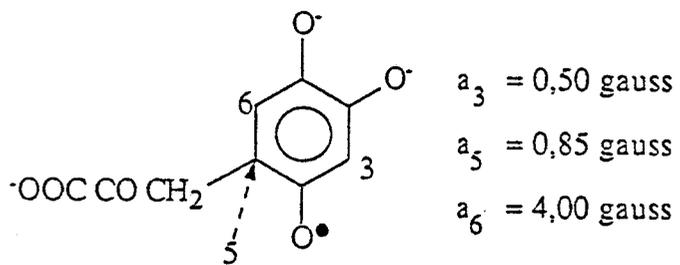
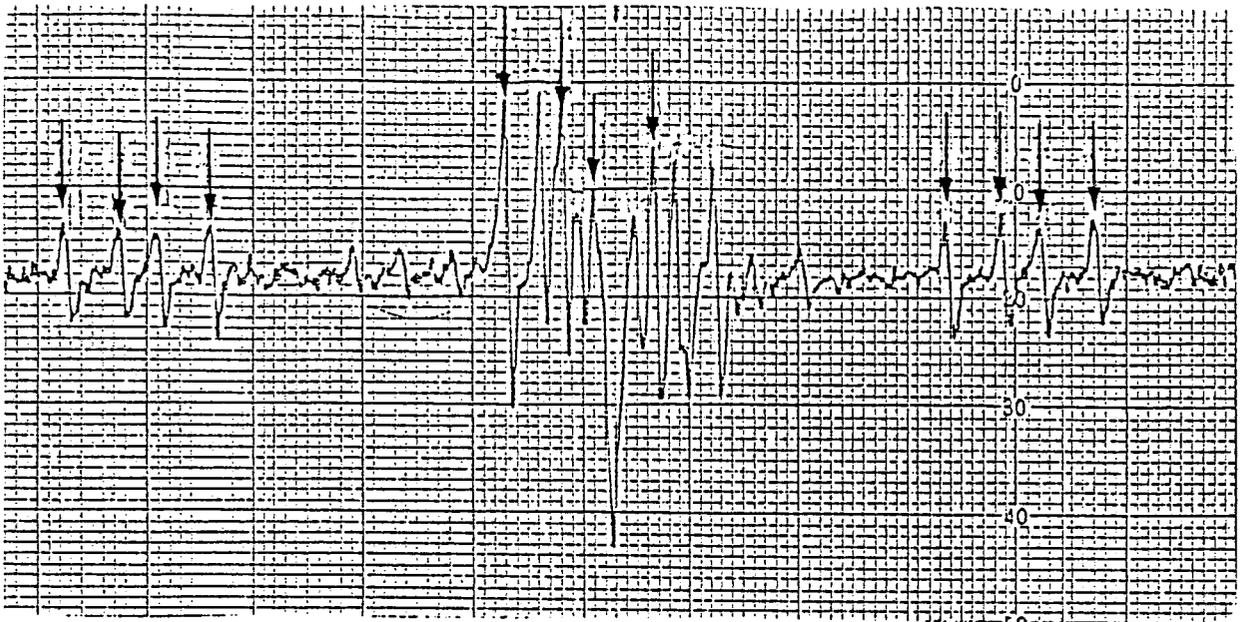


$$a_3 = 1,55 \text{ gauss}$$

$$a_6 = 0,45 \text{ gauss}$$

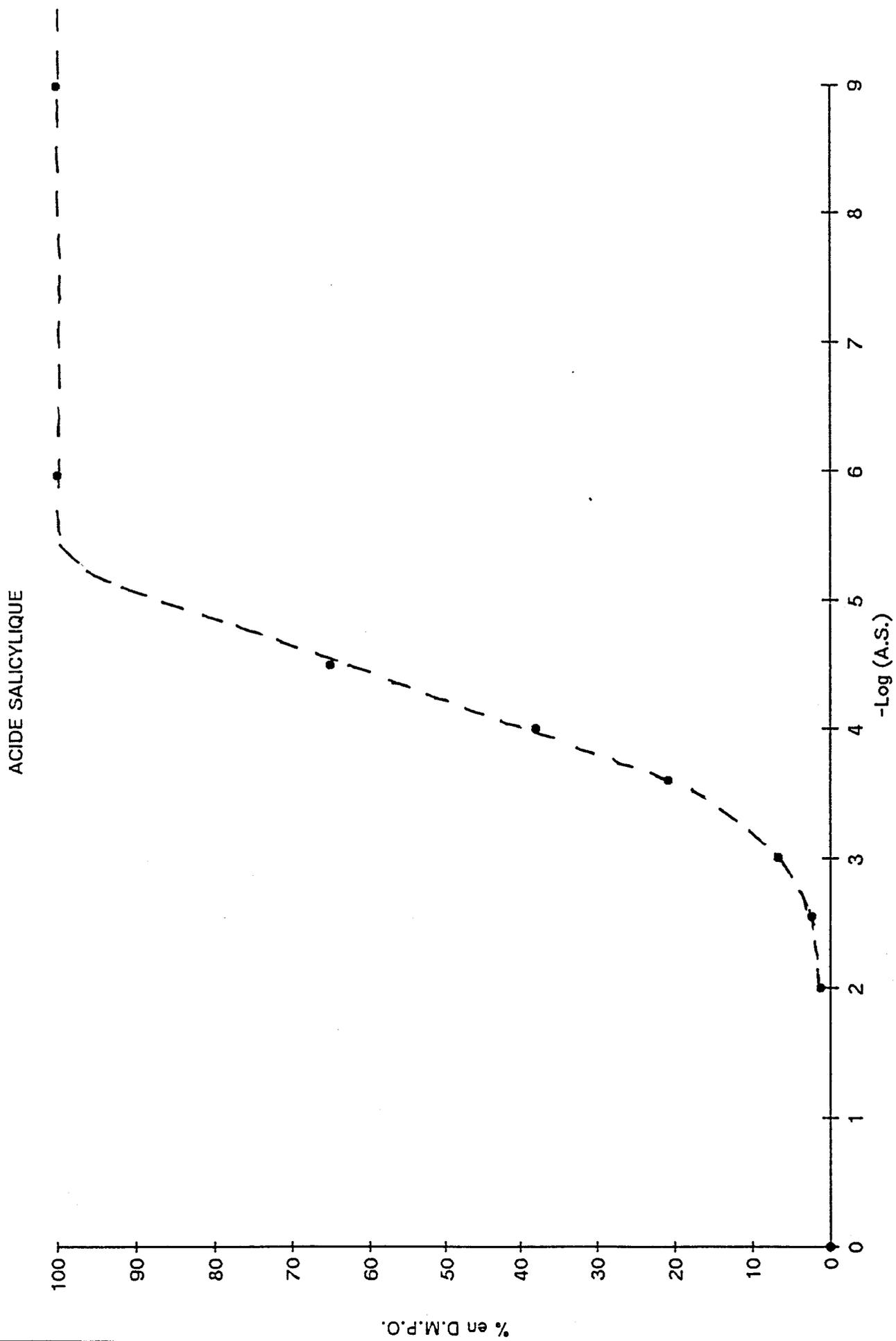




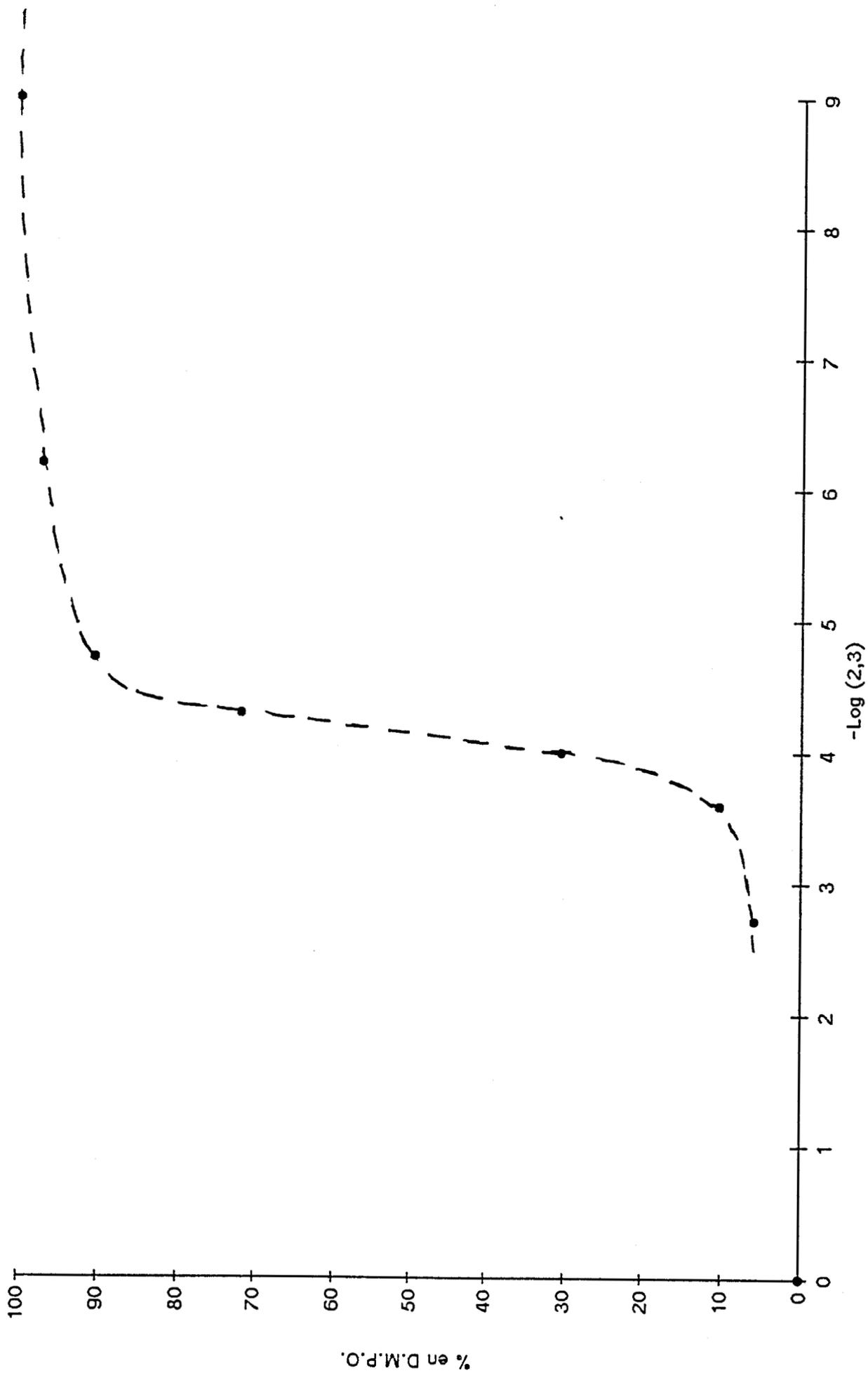


ANNEXE III

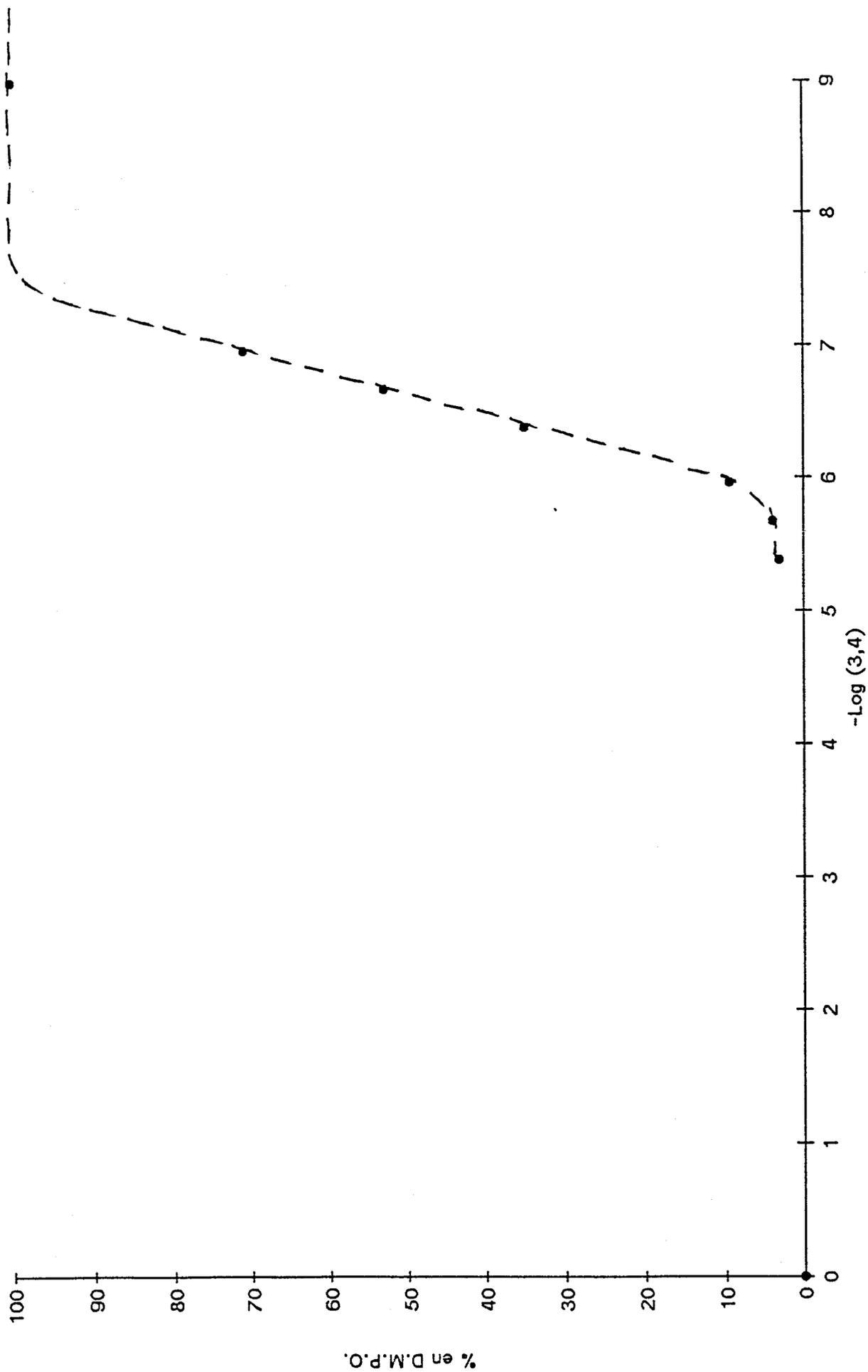
Courbes d'inhibition

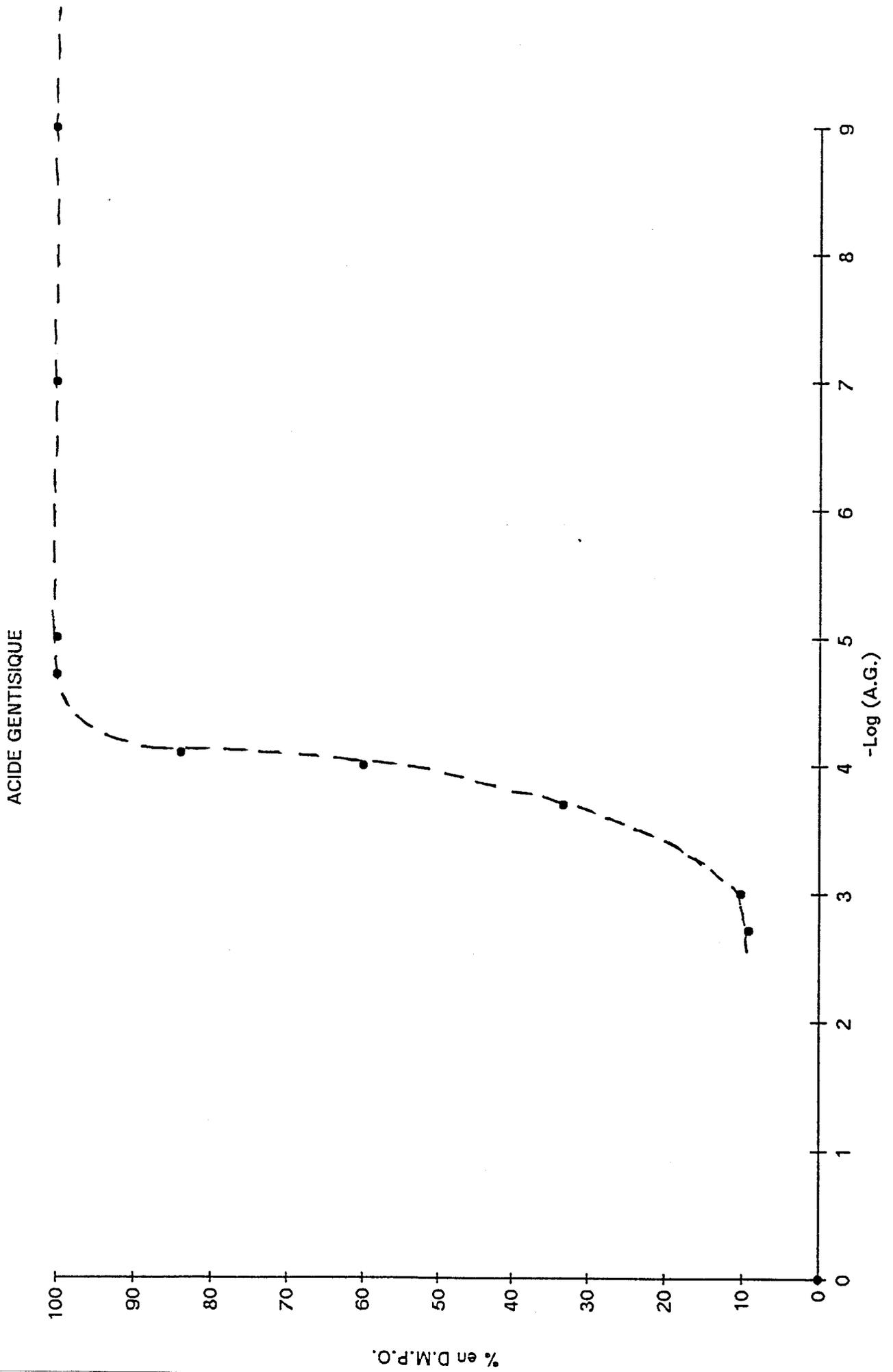


ACIDE 2.3.DIHYDROXYBENZOIQUE

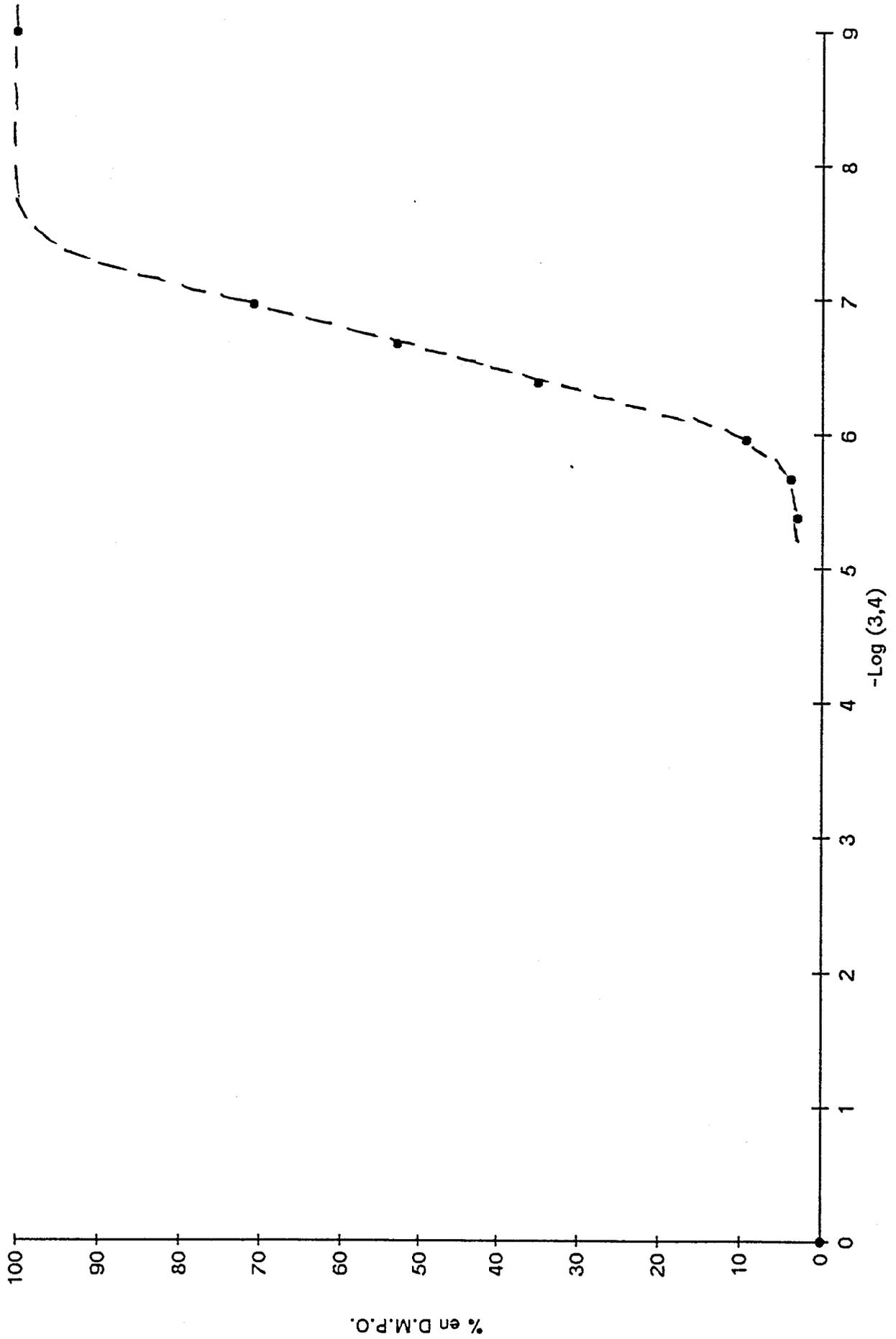


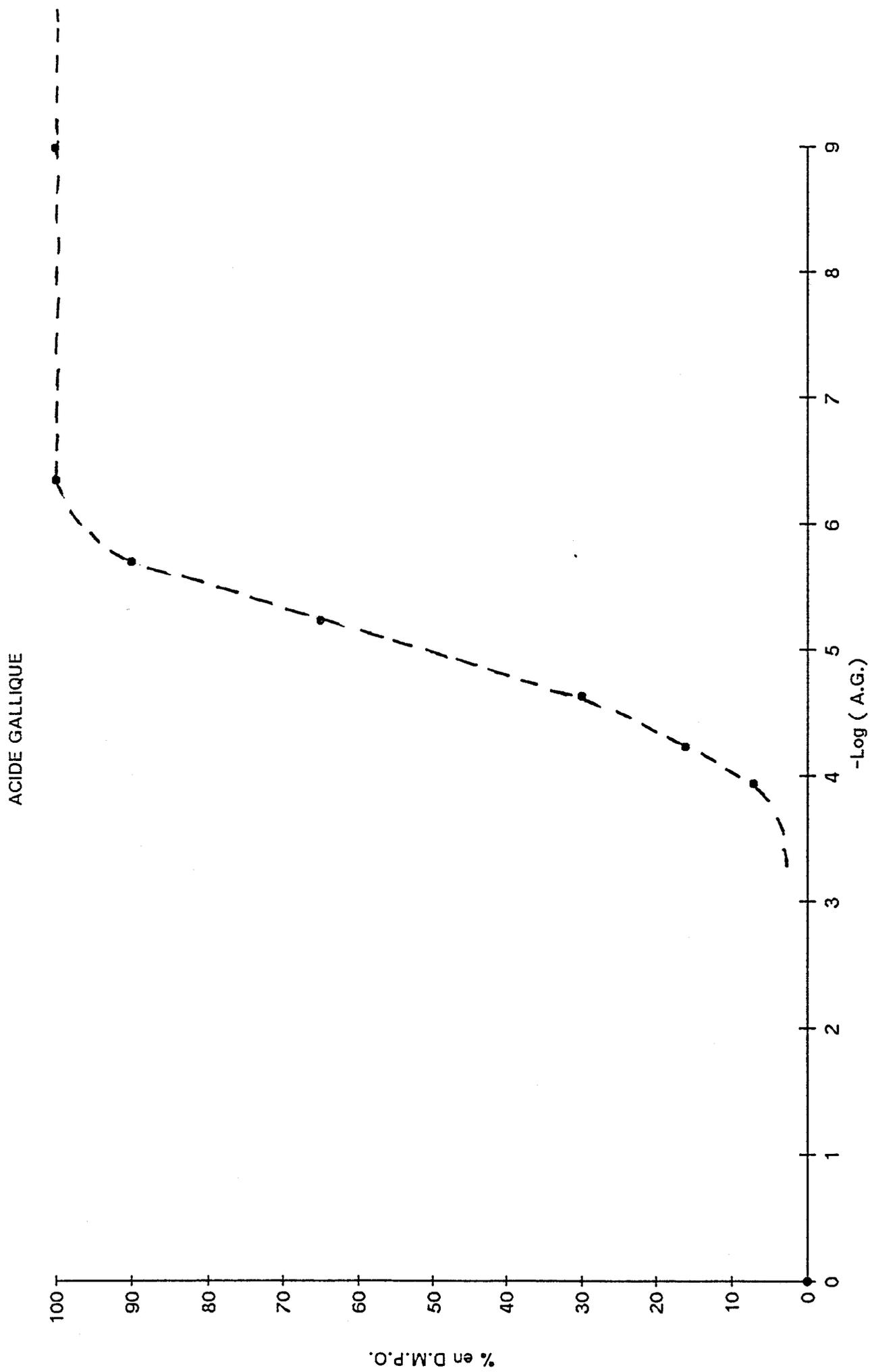
ACIDE 3.4 DIHYDROXY BENZOIQUE

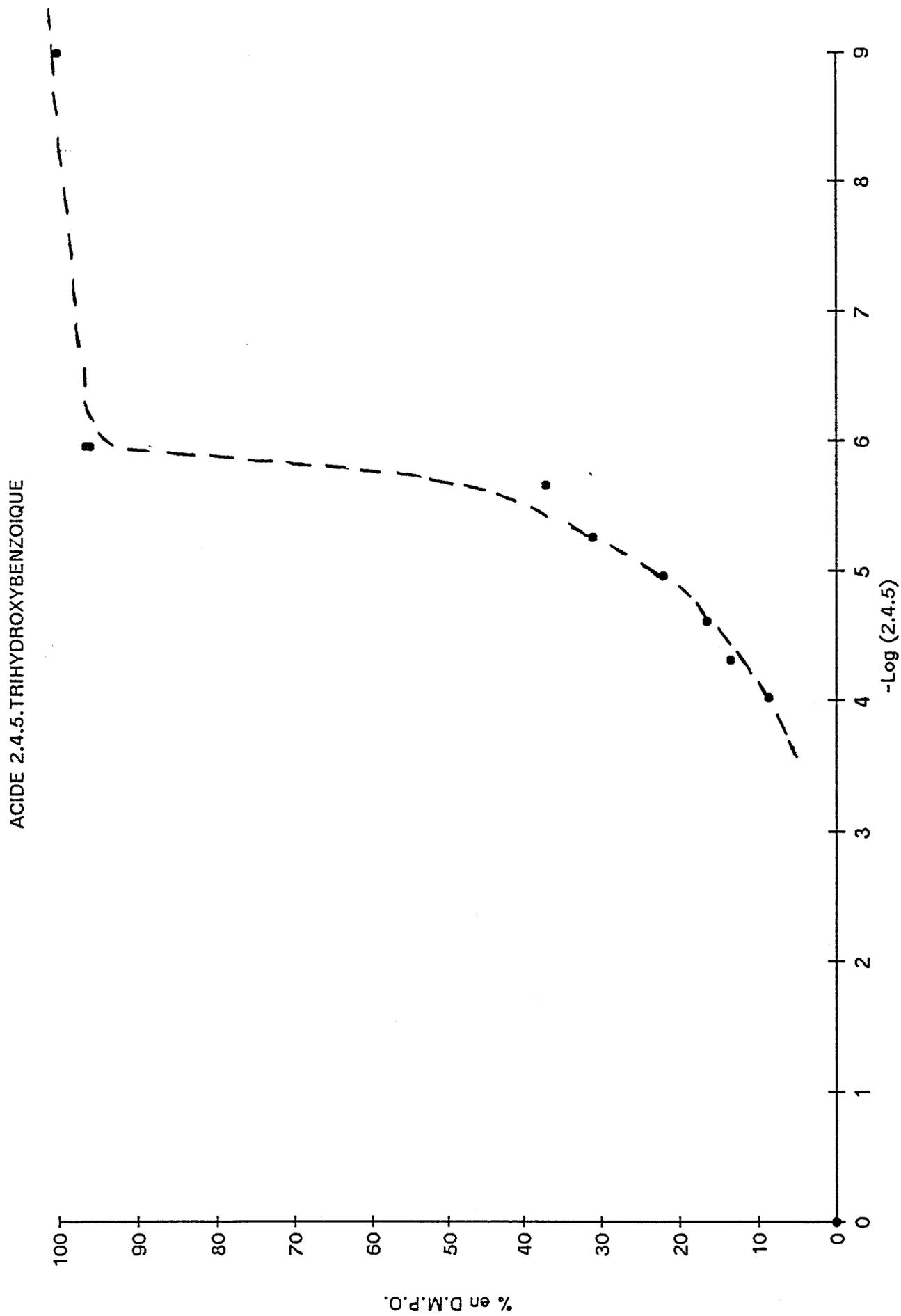




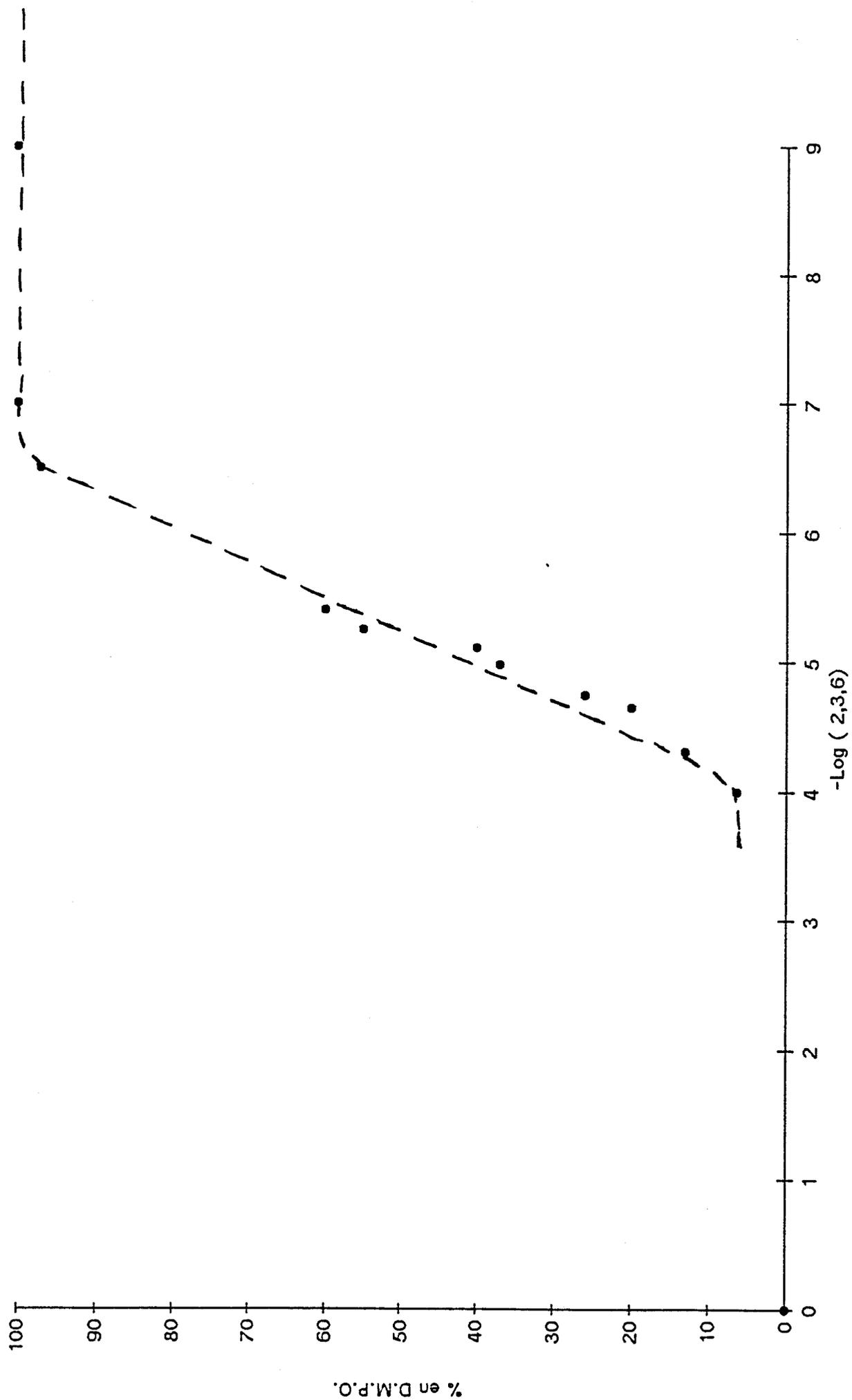
ACIDE 3,4 DIHYDROXY BENZOIQUE



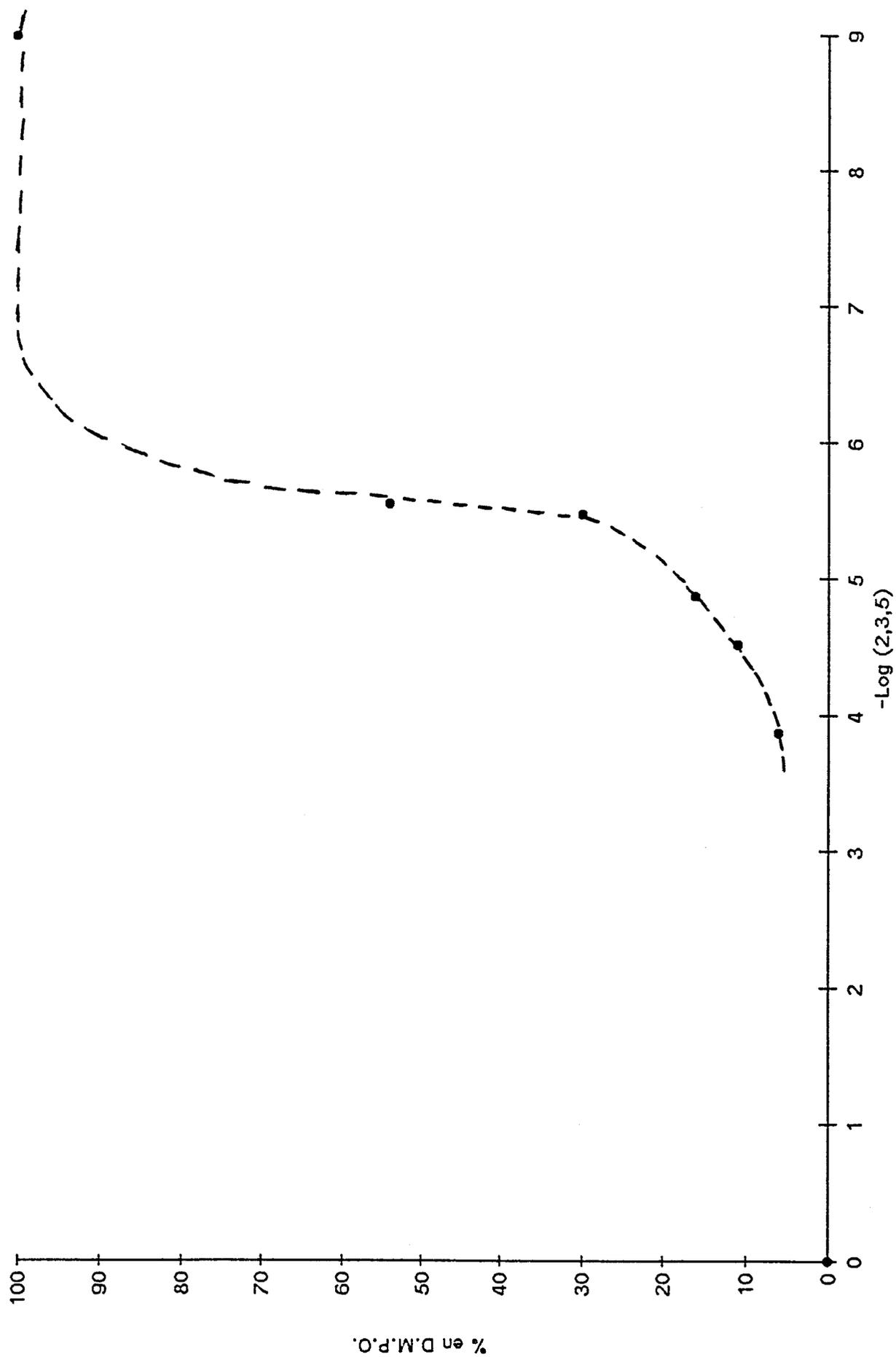




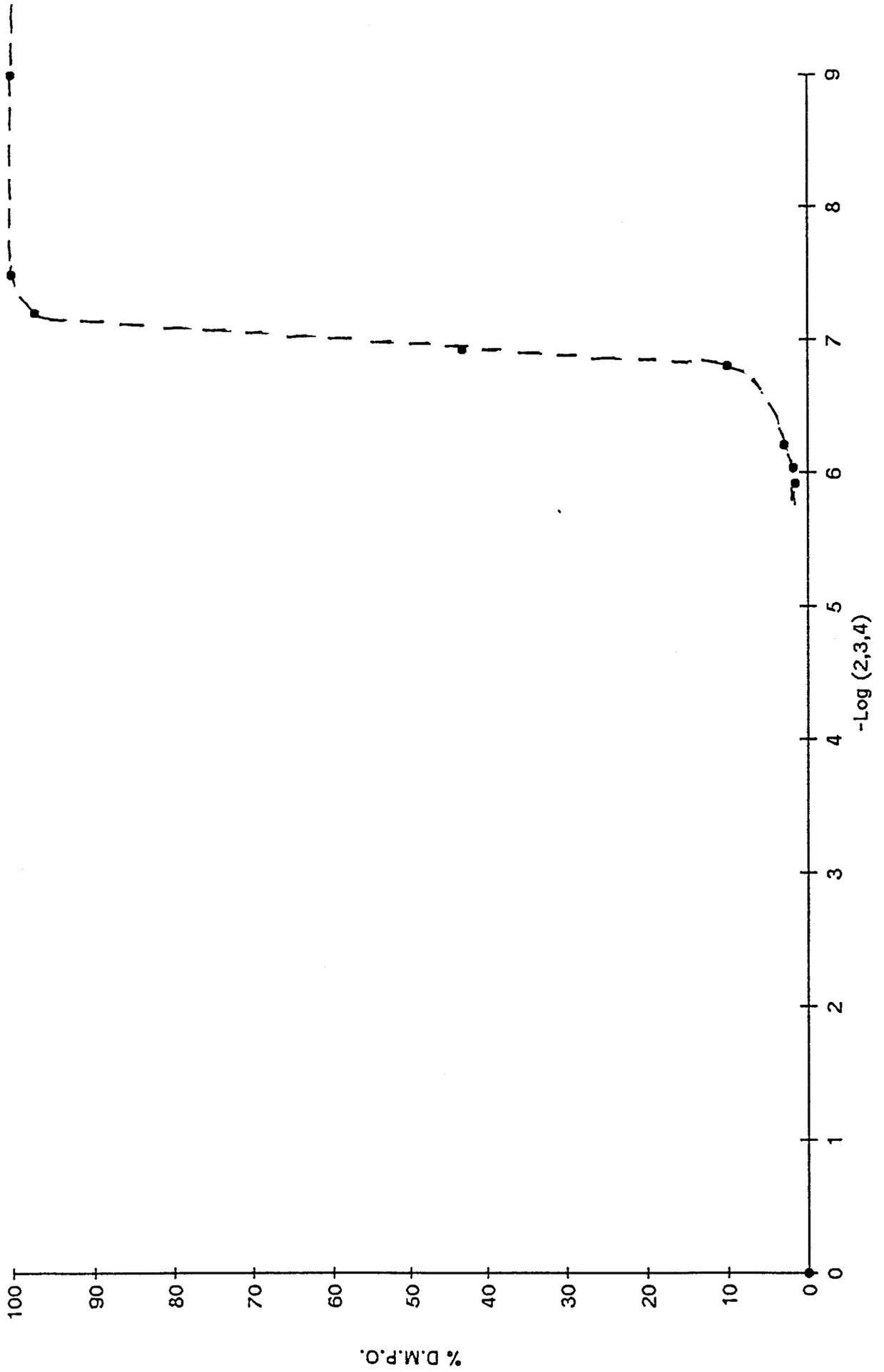
ACIDE 2.3.6.TRIHYDROXY BENZOIQUE



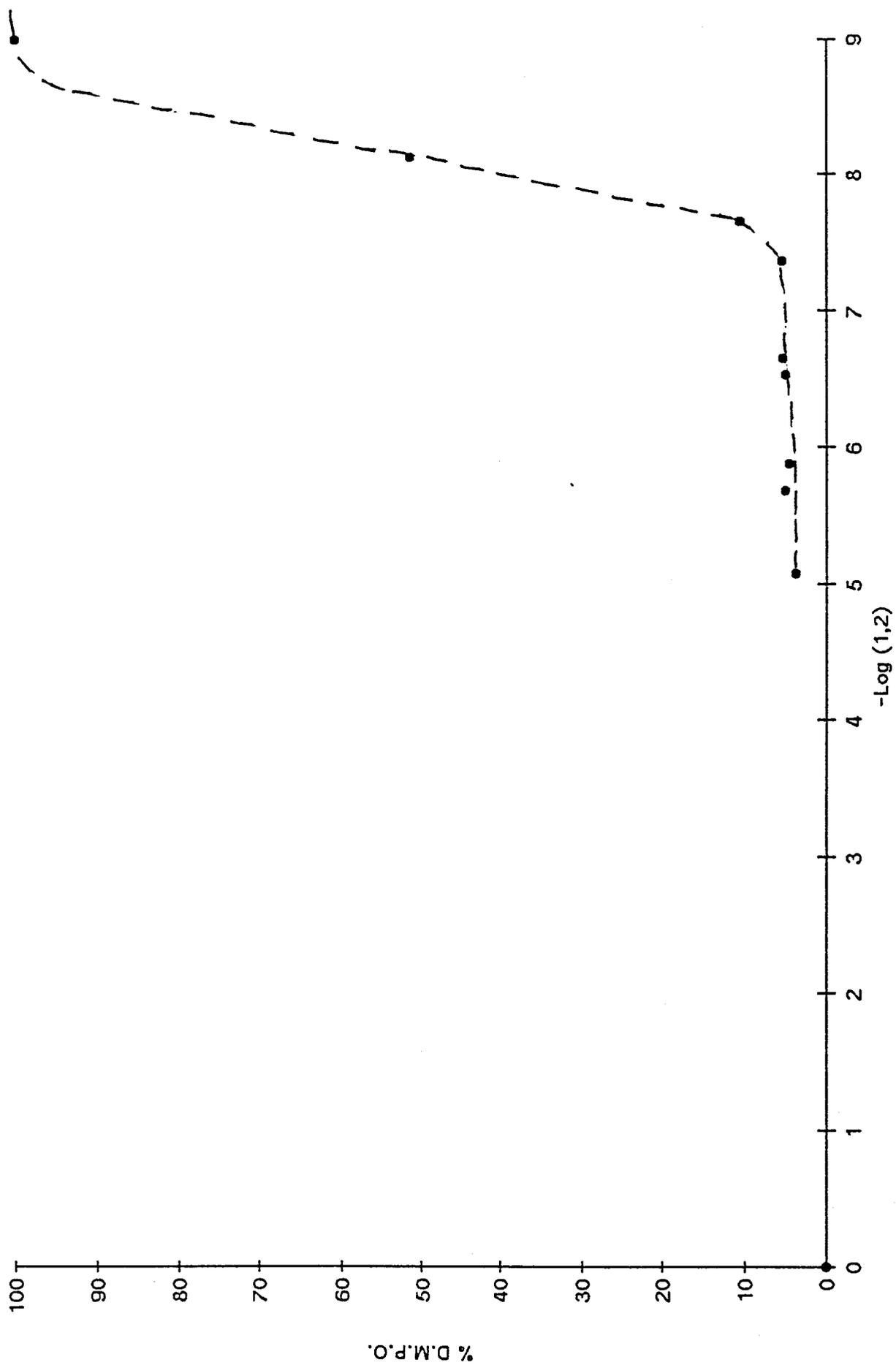
ACIDE 2.3.5.TRIHYDROXYBENZOIQUE



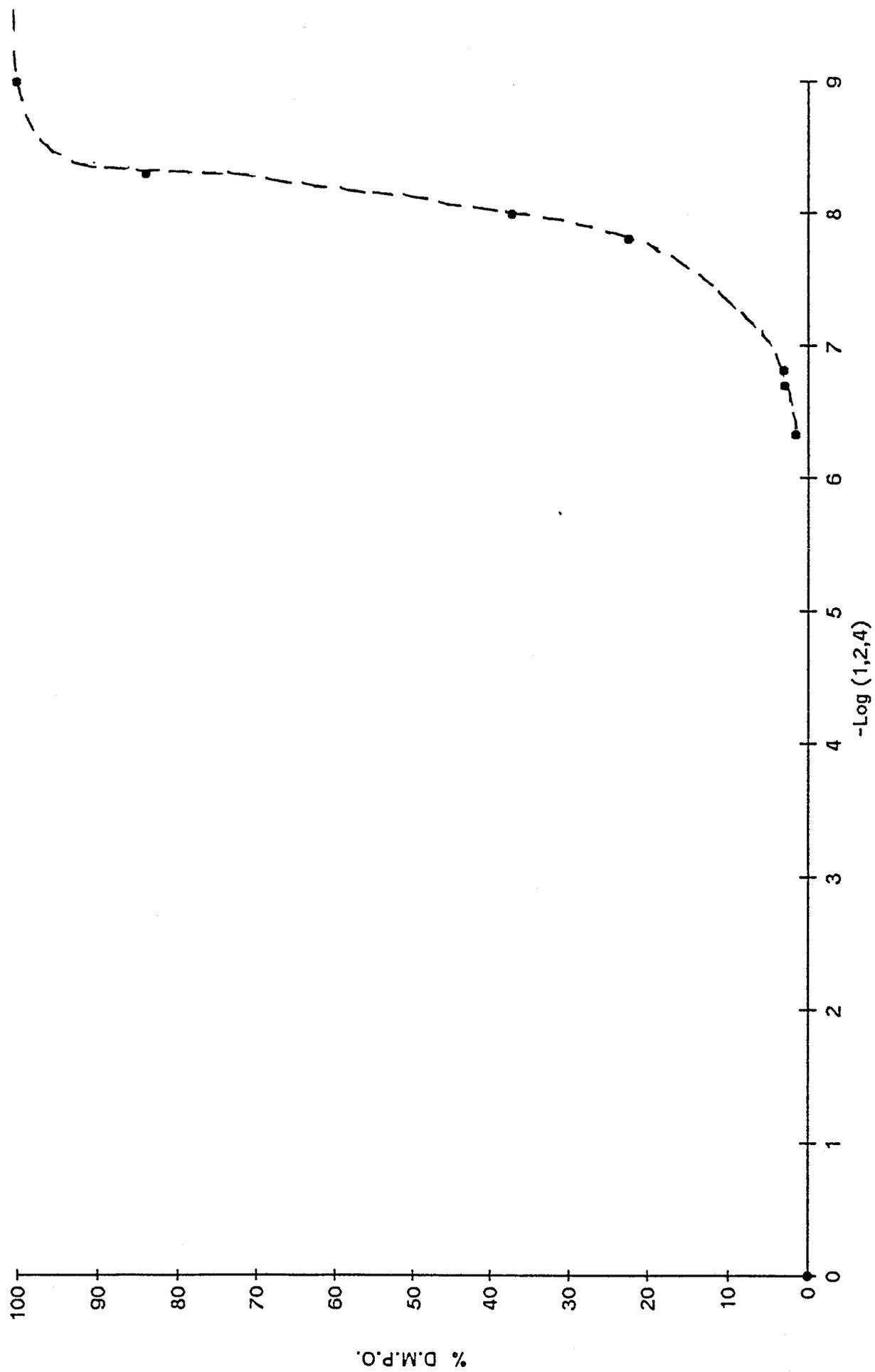
ACIDE 2.3.4 TRIHYDROXYBENZOIQUE



1,2 DIHYDROXYBENZENE



1.2.4 TRIHYDROXY BENZENE



1.2.3-TRIHYDROXY BENZENE

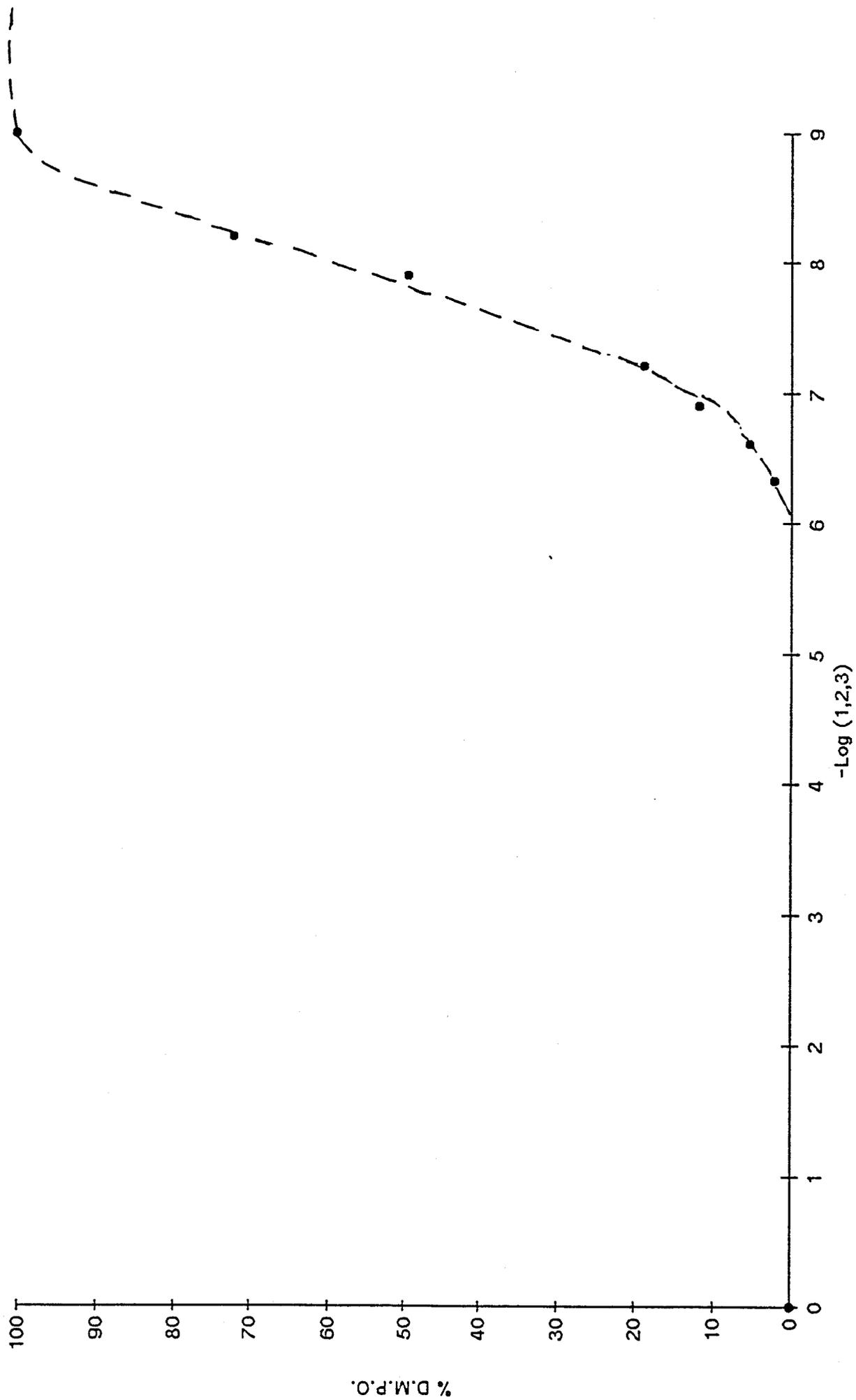


TABLE DES MATIERES

<u>INTRODUCTION</u>	1
Effets cytotoxiques des produits d'autoxydation	6
Pouvoir antioxydant des produits d'autoxydation	8
Références Bibliographiques	12

PREMIERE PARTIE : OXYDO - REDUCTION DE L'ACIDE GENTISIQUE

	15
I La voltammétrie cyclique	16
A Principe de la méthode	16
B Détermination des potentiels d'oxydation de l'acide gentisique en fonction du pH	21
1 <u>Valeur des pK_a de l'acide gentisique</u>	21
2 <u>Variation des potentiels d'oxydo - réduction en fonction du pH</u>	22
a) pH = 1,0 ; concentration = $6,9 \cdot 10^{-3}M$	23
b) pH = 12,0 ; concentration = $7,3 \cdot 10^{-3}M$	26
c) pH = 13,7 ; concentration = $6,1 \cdot 10^{-3}M$	29
II Electrochimie couplée à la RPE : étude de l'acide gentisique	30
A Appareillage	30
B Remarque préliminaire	31
C Etude selon le pH	31
1 <u>pH < pK_{a2}</u>	32
2 <u>pK_{a2} < pH < pK_{a3}</u>	32
3 <u>pH > pK_{a3}</u>	34
a) les doubles doublets	35
b) les doublets	42
c) le singulet	44

III Synthèse des différents acides trihydroxybenzoïques	47
A Synthèse des acides triméthoxybenzoïques	47
1 <u>L'acide 2,3,6 - triméthoxybenzoïque</u>	47
2 <u>L'acide 2,3,5 - triméthoxybenzoïque</u>	48
a) première voie	49
b) deuxième voie	51
B Synthèse des acides trihydroxybenzoïques	52
1 <u>Introduction</u>	52
2 <u>Applications à nos composés</u>	54
IV Electrochimie couplée à la RPE : étude des acides trihydroxybenzoïques	55
A L'acide 2,3,6 - trihydroxybenzoïque	55
1 <u>Le double doublet F</u>	56
2 <u>Le doublet</u>	58
3 <u>Le double doublet E</u>	58
B L'acide 2,3,5- trihydroxybenzoïque et l'acide 2,4,5- trihydroxybenzoïque	60

V Les calculs de constantes de couplage	60
Méthodes de calculs	61
1 <u>Les calculs Mac Lachlan</u>	61
a) les acides tétrahydroxybenzoïques	65
b) les différents dimères	65
2 <u>La méthode INDO</u>	67
VI Conclusions	70
Références Bibliographiques : Première partie	72

DEUXIEME PARTIE : AUTOXYDATION DE L'ACIDE GENTISIQUE 76

I Les substances humiques	77
A Isolation des substances humiques	77
1 <u>A partir des substrats solides</u>	77
2 <u>A partir des substances aqueuses</u>	78
B Effets des substances humiques sur l'environnement	78
C Composition des substances humiques	78
II La réaction d'autoxydation	82
A Mode opératoire	82
B Influences des conditions expérimentales sur l'apparition et l'évolution des radicaux	82
1 <u>Le pH</u>	83
a) pH acide	83
b) pH physiologique	84
c) pH basique	84
2 <u>La concentration en acide gentisique</u>	87
3 <u>La température</u>	87
C Propositions de structures pour les radicaux non décrits	87
1 <u>Les doublets</u>	87
2 <u>Le triple quadruplet</u>	89

D Mécanisme	92
E Autoxydation des acides trihydroxybenzoïques	97
F Conclusions	99
1 <u>pH basique</u>	99
2 <u>pH acide</u>	100
3 <u>pH physiologique</u>	102
Références Bibliographiques : Deuxième partie	103

**TROISIEME PARTIE : PROPRIETES ANTIOXYDANTES-REACTIVITE DE
L'ACIDE GENTISIQUE ET DE SES DERIVES VIS-A-VIS DU RADICAL
HYDROXYLE**

106

I Le spin trapping

109

A Les composés nitroso

110

B Les nitrones

111

II Principe du test antioxydant

113

Le signal RPE de l'adduit DMPO - OH

114

III Résultats

114

Références Bibliographiques : Troisième partie

119

CONCLUSION GENERALE

121

<u>PARTIE EXPERIMENTALE</u>	123
I Synthèses	124
A Synthèse de l'acide 2,3,5 - trihydroxybenzoïque	124
B Synthèse de l'acide 2,3,6 - trihydroxybenzoïque	125
1 <u>Lithiation du 1,2,4 - triméthoxybenzène</u>	125
2 <u>Formation de l'acide 2,3,6 - triméthoxybenzoïque</u>	125
3 <u>Déméthylation</u>	125
C Synthèse de l'acide 2,3,5 - trihydroxybenzoïque	126
1 <u>Synthèse du 2,3 - diméthoxy -5- hydroxybromobenzène</u>	126
2 <u>Synthèse du 2,3,5 - triméthoxybromobenzène</u>	127
3 <u>Synthèse de l'acide 2,3,5 - triméthoxybenzoïque</u>	127
4 <u>Synthèse de l'acide 2,3,5 - trihydroxybenzoïque</u>	128

D Synthèse de la 2 - carboxy - 1,4 - benzoquinone	128
E Synthèse de la 2 - carboxy - 3 - hydroxy - 1,4 - benzoquinone	129
II Spectroscopie RPE	129
III La voltammétrie cyclique	130
IV Programmes de simulation de spectres et des calculs Mac Lachlan	130
Références Bibliographiques : Partie expérimentale	131

<u>ANNEXE I : LES METHODES DE CALCULS</u>	132
I L'équation de Schrödinger	133
II Simplification de la fonction d'onde	135
A Produit simple de fonctions monoélectroniques	135
B Produit antisymétrisé de fonctions monoélectroniques	136
C Combinaison linéaire des déterminants de Slater	137
III Simplification de l'hamiltonien	138
Approximation de l'opérateur effectif	138
IV Les équations de Hartree - Fock	138
V Les différentes méthodes	141
A La méthode de Hückel simple	141
B Extension de la méthode de Hückel	142
C Les méthodes semi - empiriques	142
Références Bibliographiques : Annexe I	144

ANNEXE II : SPECTRES RPE

146

ANNEXE III : COURBES D'INHIBITION

154

