

*Short communication**Chemistry*

## Composé modèle des métalloprotéines de zinc: synthèse et caractérisation du complexe bisformatobis(2-isopropylimidazole)zinc(II)

Jean. NGOUNE, Christelle Noelle TEKOUO DZESSE, Georges Calvin DONGMO & Pierre TANE

<sup>1</sup>: Department of Chemistry, The University of Dschang, P.O. Box 67 Dschang, Cameroon;

<sup>2</sup>: Department of Inorganic Chemistry, The University of Yaoundé I, P.O. Box 812 Ydé, Cameroon

\* To whom correspondence should be addressed, E-mail: [jeangoune@yahoo.com](mailto:jeangoune@yahoo.com), Tel: (237) 33.12.49.34

**RESUME**

La réaction dans le toluène du zinc formate dihydraté,  $Zn(HCOO)_2 \cdot 2H_2O$  avec le 2-isopropylimidazole à température ambiante a conduit à l'obtention du nouveau complexe bisformatobis(2-isopropylimidazole)zinc(II) de formule  $[Zn(N_2H_{10}C_6)_2(OOCH)_2]$ . Ce matériau a été caractérisé par diverses techniques (analyse élémentaire, spectroscopies IR et RMN) et l'analyse thermogravimétrique (ATG). Les analyses spectroscopiques (IR, <sup>1</sup>H-RMN, <sup>13</sup>C-RMN) ont montré que ce matériau aurait une structure exhibant le site actif observé dans certaines métalloprotéines telles que les carboxypeptidase A ou B. L'analyse thermogravimétrique montre que ce matériau est stable jusqu'à 100°C.

Mots clés : Complexe de zinc, imidazole, bisformatobis(2-isopropylimidazole)zinc(II)

**ABSTRACT**

The reaction of zinc formate with 2-isopropylimidazole at room temperature using toluene as solvent has produced the new complex bisformatobis(2-isopropylimidazole)zinc(II) or  $[Zn(N_2H_{10}C_6)_2(OOCH)_2]$ . This compound has been characterized using different analytical techniques (elemental analysis, IR and NMR spectroscopies). The spectroscopic analysis (IR, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR) showed that this material would have a structure exhibiting the active site observed in certain metalloproteins such as carboxypeptidase A or B. The thermal analysis (TGA) showed that this material is stable up to 100°C.

Key words: Zinc(II) complex, imidazole, bisformatobis(2-isopropylimidazole)zinc(II)

**INTRODUCTION**

Les enzymes sont connues comme étant des catalyseurs de diverses réactions biochimiques ou biologiques. Il est démontré que la réactivité de certaines d'entre elles est induite ou améliorée soit par la présence des molécules non protéiniques soit par celle des ions métalliques tels que ceux du fer, du cuivre, du nickel, du cobalt et du zinc.

A l'état actuel de nos connaissances, les données tirées de la littérature mentionnent clairement que la combinaison des ions métalliques avec certaines molécules organiques (ou ligands) contenant les atomes d'azote ou d'oxygène peuvent servir comme composés modèles possédant certains sites actifs des enzymes bien connues [1]. Par exemple, le site actif de la carboxypeptidase A (Fig.1) a été complètement décrit; il est constitué d'un ion zinc, de deux molécules d'histidine, d'une molécule d'eau et de l'ion glutamate [2].



Figure 1: Structure moléculaire de la carboxypeptidase A exhibant son site actif

Au regard des structures et de la constitution de ces enzymes, nous avons pensé qu'un choix judicieux des sels des éléments métalliques présents dans certaines enzymes, puis celui des ligands organiques contenant les atomes d'azote et/ou d'oxygène peut permettre de façon générale de construire des molécules ayant des structures

semblables à celles décrites de diverses protéases et responsables de leur activité.

Dans le but d'agrandir le groupe des composés analogues des métalloprotéines ou métalloenzymes, nous nous sommes proposés de soumettre à l'expérimentation dans les conditions douces la réaction des sels des métaux essentiels de la première série de transition sur les imidazoles et leurs dérivés.

Nous avons entrepris de synthétiser à partir du zinc formate et de la 2-isopropylimidazole, le complexe neutre bisformatobis(2-isopropylimidazole)zinc(II),

[Zn(N<sub>2</sub>H<sub>10</sub>C<sub>6</sub>)<sub>2</sub>(OOCH)<sub>2</sub>] dans l'optique de retrouver dans sa structure un site actif potentiellement analogue à celui observé dans la carboxypeptidase A ou B et, plus tard évaluer et comparer son activité catalytique à celle des autres protéases.

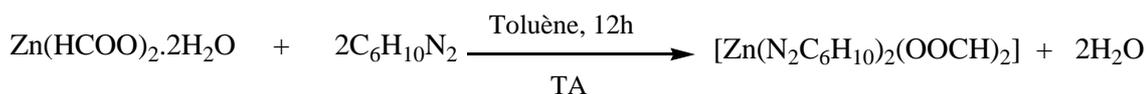
#### MATERIEL ET METHODES

**Matériels.** Les réactifs et les solvants (zinc formate-eau(1/2) : Zn(HCOO)<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O qualité analytique, 2-isopropylimidazole, C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub> 98%,

toluène pur, le dichlorométhane (DCM), cyclohexane, acétone, n-hexane) utilisés pour cette synthèse sont de source commerciale. Ils ont été utilisés sans purification supplémentaire.

Le point de fusion a été mesuré à l'aide d'un microscope à platine chauffante de marque REICHERT. L'analyse des éléments C, H, N s'est faite sur un appareil de marque FISIONS INSTRUMENTS 1108 CHNS-O. Le spectre Infra Rouge a été enregistré sur le spectromètre Perkin-Elmer FT-IR 100. Les spectres de RMN (400MHz, <sup>1</sup>H) et (100 MHz, <sup>13</sup>C) ont été enregistrés sur un spectromètre Mercury Plus Varian 400. L'échantillon a été placé sous atmosphère d'azote pendant son analyse thermogravimétrique faite sur une thermo-balance de type Perkin-Elmer STA 6000.

**Synthèse.** Une réaction est effectuée entre le zinc formate et la 2-isopropylimidazole dans le toluène, à température ambiante (TA). Celle-ci dure douze heures de temps environ au terme desquelles on obtient le composé à caractériser. L'équation de cette réaction est la suivante :



Dans un ballon de 100 mL contenant environ 30 mL de toluène, est introduit la poudre incolore de zinc formate, Zn(HCOO)<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O (1,00 g; 5,2 mmol) qui s'est dissout au bout d'une heure environ, à température ambiante et sous agitation magnétique. A la solution incolore obtenue a été ajoutée de la 2-isopropylimidazole, C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub> (1,15 g, 10,4 mmol). Le mélange liquide résultant est maintenu sous agitation pendant douze heures ou une nuit. Pendant ce temps il s'est formé un solide incolore dans le ballon. Le précipité pâteux ainsi obtenu a été isolé par simple filtration, et lavé trois fois de suite à l'acétone seul, puis au mélange DCM : cyclohexane (1 :1). Par la suite, à ce précipité est ajouté un mélange DCM : n-hexane (1 :1), puis laissé à température ambiante jusqu'à évaporation quasi-complète des solvants. Pendant ce temps, il s'est formé des cristaux incolores. Les cristaux ainsi obtenus (1,60 g) ont été séchés sur le papier filtre puis utilisés pour différentes analyses.

#### RESULTATS ET DISCUSSION

**Synthèse.** La réaction dans le toluène du 2-isopropylimidazole sur le zinc formate dihydraté à température ambiante pendant douze heures a généré le complexe incolore [Zn(N<sub>2</sub>H<sub>10</sub>C<sub>6</sub>)<sub>2</sub>(OOCH)<sub>2</sub>]. Ce complexe s'avère stable à température ambiante. Il s'est montré assez soluble dans le méthanol (CH<sub>3</sub>OH) et le dichlorométhane (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>). Il est insoluble dans l'eau. Le rendement de cette synthèse est d'environ 80%. La comparaison des pourcentages des différents éléments C, H et N analysés (%C: 44,85 ; %H: 5,98 ; %N: 14,76) avec leurs valeurs théoriques %C : 44,75 ; %H: 5,90 ; %N: 14,91) permet de proposer au composé synthétisé la formule brute [Zn(N<sub>2</sub>H<sub>10</sub>C<sub>6</sub>)<sub>2</sub>(OOCH)<sub>2</sub>].

**Spectroscopies.** Le composé synthétisé soumis à l'analyse Infra Rouge (IR) nous a permis d'enregistrer le spectre de la figure 2. Ce spectre est enregistré dans la région 4000 – 650 cm<sup>-1</sup>. Sur ce spectre, on note l'absence de la bande d'absorption due aux vibrations des –OH attendue vers 3500 cm<sup>-1</sup>; ce qui signifie que ce composé ne

contiendrait pas de molécules d'eau. Ce spectre présente par contre des bandes d'absorption attribuables aux ligands organiques utilisés : la 2-isopropylimidazole et l'anion formate. La fine bande d'absorption observée à 3136  $\text{cm}^{-1}$  est attribuable à la vibration de valence de N-H de la 2-isopropylimidazole. Cette bande (attendue vers 3300  $\text{cm}^{-1}$ ) est légèrement déplacée vers les faibles fréquences; ce qui traduirait le fait que ce proton peut être engagé dans les liaisons hydrogènes impliquant l'atome d'oxygène de l'ion formate. En effet, dans les composés de cadmium et de cuivre ayant des pyrazoles et acétates comme ligands, un déplacement semblable dû aux interactions hydrogènes, a été observé [3-5]. Les faibles bandes d'absorption à 2967-2823  $\text{cm}^{-1}$  sont celles des vibrations de valence de C-H [6] du cycle imidazole et des groupements méthyles. La large et intense bande d'absorption observée à 1610-1562  $\text{cm}^{-1}$  serait due à la fois aux vibrations de valence de C=C et C=N du cycle imidazolique et à celles des C=O de l'ion formate. Le pic caractéristique du groupe C=N (1610  $\text{cm}^{-1}$ ) est effectivement déplacé vers les faibles fréquences ; ce qui traduirait la coordination par l'atome d'azote iminique de l'isopropylimidazole. Un tel comportement a été déjà observé avec les complexes de cuivre dérivant des ligands binucléaires ayant à la fois des ligands donneurs phénol et benzimidazole [7]. Il est en effet montré que les vibrations C=O, C=N et C=C apparaissent quasiment dans la même région de fréquence 1700-1550  $\text{cm}^{-1}$ . L'analyse Infra Rouge confirme tout comme l'analyse micro-élémentaire la formulation  $[\text{Zn}(\text{N}_2\text{H}_{10}\text{C}_6)_2(\text{OOCH})_2]$  pour le solide incolore isolé.

La figure 3 présente le spectre RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) de  $[\text{Zn}(\text{N}_2\text{H}_{10}\text{C}_6)_2(\text{OOCH})_2]$  dans le DCM deutéré. Sur ce spectre RMN  $^1\text{H}$ , on observe les signaux de cinq types de protons. En effet, les protons des méthyles du groupement isopropyle résonnent à  $\delta = 1,2$  ppm sous forme d'un multiplet (6H, m, -CH<sub>3</sub>). Deux singulets sont également présents : le large singulet centré à  $\delta = 13,3$  ppm (1H, sl, -NH) est attribuable au proton imidazolique alors que celui observé à  $\delta = 8,5$  ppm (1H, s, HCOO) est dû au proton du carboxylate. Les signaux dus aux protons H-4 / H-5 et au proton méthinique H-1' sont également observés à  $\delta = 6,8$  (2H, m, H-4/H-5) et 3,1 ppm (1H, m, H-1'), respectivement. Le spectre de RMN ( $^{13}\text{C}$ , 100 MHz) enregistré également dans le dichlorométhane deutéré est

présenté à la figure 4. On y relève 6 types de carbones parmi lesquels un carbonyle ne provenant que du groupement carboxylate ( $\delta = 169,3$  ppm; C=O) et deux méthyles isopropyliques ( $\delta = 21,3$  ppm ; C-2' / C-3'). Ce spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  montre également trois carbones méthiniques : dont deux de type  $\text{sp}^2$  qui résonnent à  $\delta = 117,5$  ppm (CH, C-4), 125,0 ppm (CH, C-5) et un de type  $\text{sp}^3$  à  $\delta = 28,4$  ppm (-CH, C-1'). On y observe également le signal ( $\delta = 155,9$  ppm) dû au carbone C-2 du cycle imidazolique.

#### Analyse ThermoGravimétrique (ATG).

L'analyse thermogravimétrique (ATG) du matériau synthétisé faite dans l'intervalle de température 25 °C - 350°C a donné lieu aux courbes de la figure 5.

La courbe de la variation de masse (courbe bleue) révèle que  $[\text{Zn}(\text{N}_2\text{H}_{10}\text{C}_6)_2(\text{OOCH})_2]$  est stable jusqu'à 100 °C environ. L'analyse de cette courbe montre également une perte graduelle mais significative de masse de 28,5 % entre 120-230 °C. Entre 250-350 °C, le produit résultant reste thermiquement stable. L'unique perte de masse observée (28,5 %) correspond au départ d'une molécule de 2-isopropylimidazole (calc. 29,3 % ou  $M = 110 \text{ g.mol}^{-1}$ ).

La courbe d'évolution de chaleur (courbe en rouge) présente deux processus endothermiques peu marqués aux températures respectives de 106 °C et 210 °C. Le processus thermique intervenu à environ 106 °C correspond à la fusion du composé sous analyse. En effet, l'enthalpie liée à cette transformation est estimée à  $\Delta H_f = 7,0 \text{ KJ.mol}^{-1}$ . La composition de l'échantillon est difficilement formulable bien qu'il soit établi qu'une molécule de  $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{N}_2$  ait quitté le complexe. De plus, nous n'avons pas eu l'opportunité d'analyser le composé résultant. Egalement, le second processus endothermique qui intervient à environ 210 °C n'est pas attribuable à une modification structurelle car le produit inconnu (résultant du départ de certaines parties de la molécule initiale), siège de ce phénomène est liquide à cette température. L'analyse thermogravimétrique n'ayant pas signalé un départ d'une molécule d'eau (coordonnée ou non), confirme aussi les résultats des analyses microélémentaire et spectroscopiques.

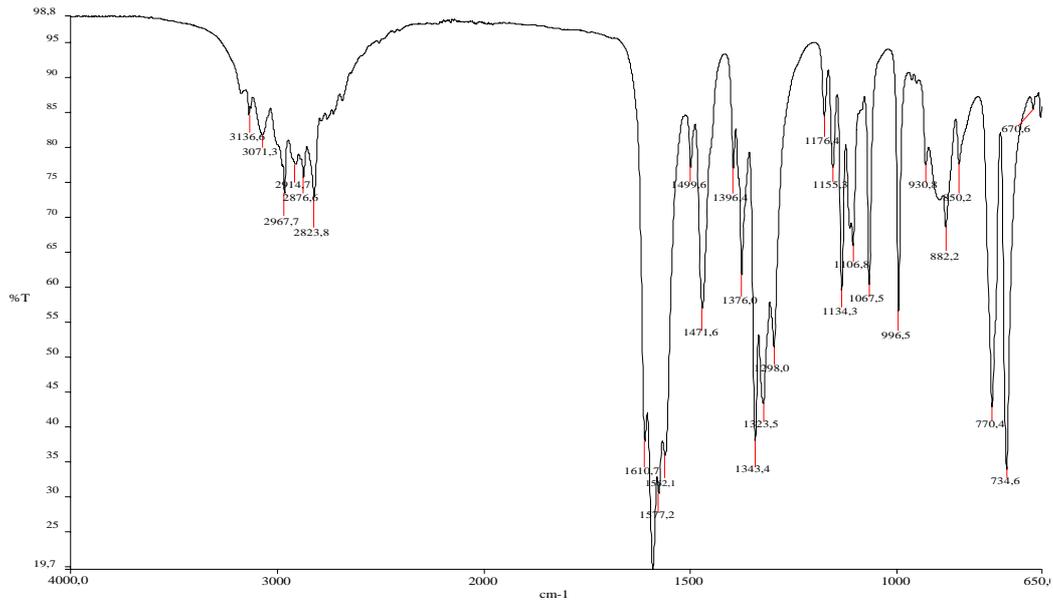


Figure 2: Spectre Infra Rouge de  $[Zn(N_2H_{10}C_6)_2(OOCH)_2]$

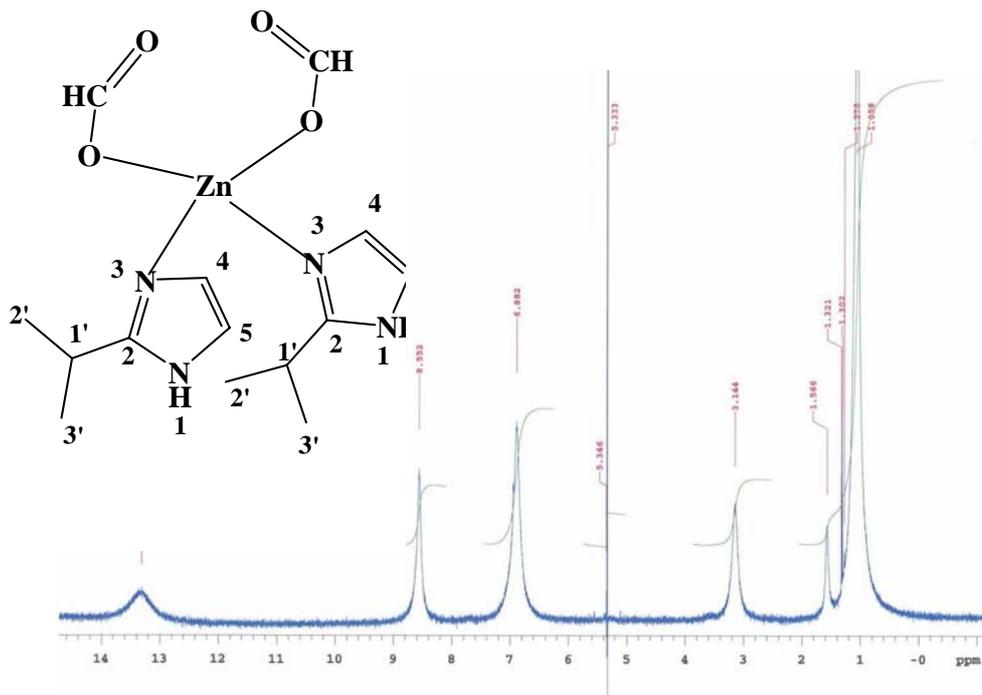


Figure 3 : Spectre de RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) de  $[Zn(N_2H_{10}C_6)_2(OOCH)_2]$

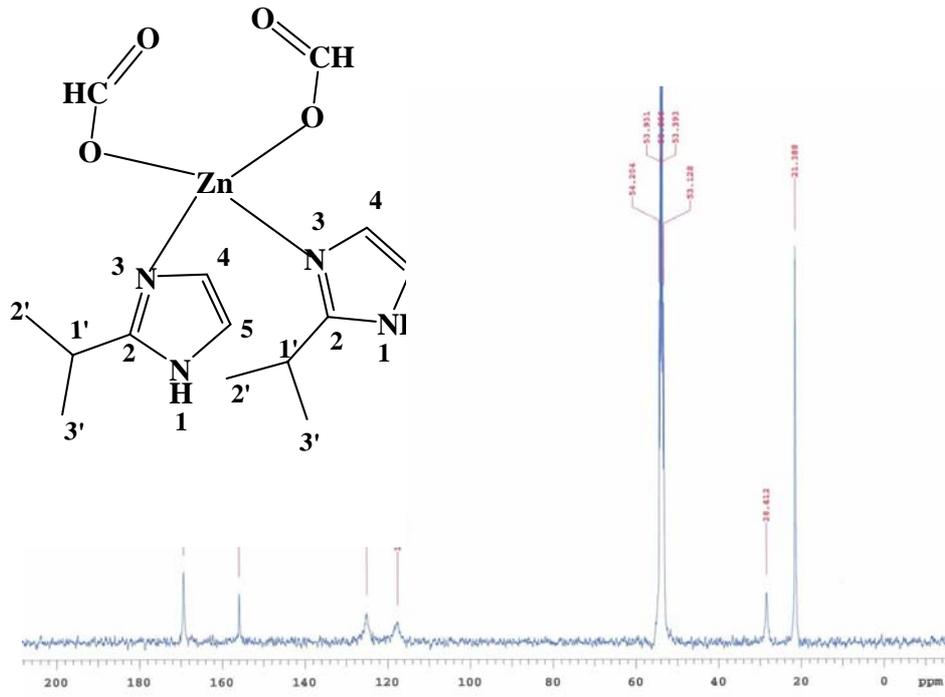


Figure 4: Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (100MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ) de  $[\text{Zn}(\text{N}_2\text{H}_{10}\text{C}_6)_2(\text{OOCH})_2]$

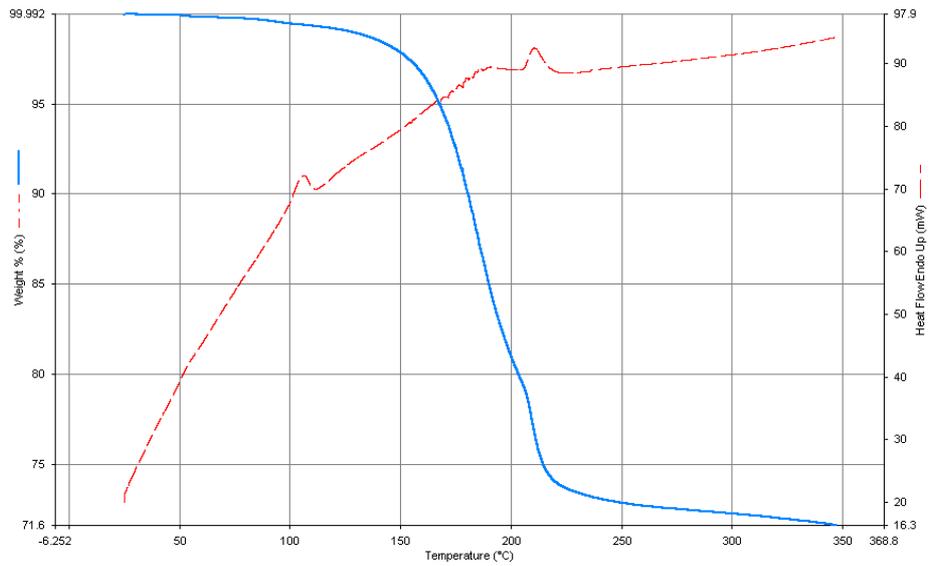


Figure 5: Courbe thermogravimétrique de  $[\text{Zn}(\text{N}_2\text{H}_{10}\text{C}_6)_2(\text{OOCH})_2]$   
(bleue = variation de masse et rouge = variation de la quantité de chaleur)

## CONCLUSION

Nous avons obtenu à la fin de la synthèse faite dans les conditions douces, des cristaux incolores avec un assez bon rendement de la réaction. Ces cristaux ont été analysés par diverses techniques de caractérisation telles que l'analyse micro-élémentaire, la mesure du point de fusion, les spectroscopies Infra Rouge à Transformée de Fourier, la Résonance Magnétique Nucléaire (proton et carbone-13) et l'analyse thermogravimétrique.

L'ensemble des résultats ainsi obtenus nous a permis de constater que le matériau isolé est probablement le complexe bisformatobis(2-isopropylimidazole)zinc(II). La détermination prochaine de sa structure cristalline confirmerait la coordination de deux molécules du 2-isopropylimidazole à l'ion zinc central, puis celle de deux ions formates au même ion zinc. Cette organisation des atomes d'azote et d'oxygène autour du zinc est pratiquement semblable à celle qu'on observe dans la carboxypeptidase A ou B, métalloprotéine naturelle de zinc.

L'observation sous lumière ultraviolette de ce composé a montré qu'il émettait une lumière bleue intense dont sa quantification permettra d'apprécier l'utilisation de ce matériau dans la fabrication des gadgets d'optique ou d'électronique.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Pettinari C. and Pettinari R. 2005. Metal derivatives of poly(pyrazolyl)alkanes II. Bis(pyrazolyl)alkanes and related systems. *Coord. Chem. Rev.* 249: 663–691.
2. Hammes B.S., Kieber-Emmons M.T., Letizia J.A., Shirin Z., Carrano C.J., Zakharov L.N. and Rheingold A.L. 2003. Synthesis and characterization of several zinc(II) complexes containing the bulky heteroscorpionate ligand bis(5-*tert*-butyl-3-methylpyrazol-2-yl)acetate: relevance to the resting states of the zinc(II) enzymes thermolysin and carboxypeptidase A. *Inorg. Chim. Acta* 346: 227-238.
3. Deng Y., Wang R.J., Ding T.Z., Li Y., Sun S.Q., Feng Y.P. and Zhao Y.F. 2001. Synthesis and characterization of cadmium, copper and zinc complexes with scorpionate ligand hydrotris[3-(*p*-anisyl)-5-methylpyrazol-1-yl]borate [HB{pz<sup>An,Me</sup>}\_3]. X-ray structure of [Cd(OAc)(Hpz<sup>Me,An</sup>)(HB{pz<sup>An,Me</sup>}\_3)]·CH<sub>2</sub>Cl. *Polyhedron* 20: 291-295.
4. Masciocchi N., Galli S., Alberti E., Sironi A., Nicola C.D., Pettinari C. and L. Pandolfo. 2006. Synthesis, solid-state NMR, and X-ray powder diffraction characterization of group 12 coordination polymers, including the first example of a C-mercuriated pyrazole. *Inorganic Chemistry* 45: 9064-9074.
5. Baggio R., Garland M.T., Percec M., Vega D. 1999. Adduct formation between zinc and cadmium oxydiacetates and imidazol. Crystal structures of [Zn(Him)<sub>2</sub>(oda)]<sub>n</sub> and [Cd<sub>2</sub>(Him)<sub>4</sub>(oda)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)]<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O (Him = imidazol, oda = oxydiacetate). *Inorg. Chim. Acta* 284: 49-54.
6. Masciocchi N., Pettinari C., Alberti E., Pettinari R., Nicola C.D., Albisetti A.F. and Sironi A. 2007. Structural and Thermodiffraction Analysis of Coordination Polymers. Part I: Tin Derivatives of the Bim ligand [Bim = Bis(1-imidazolyl)methane] *Inorganic Chemistry* 46: 10491-10500.
7. Amudha P., Akilan P. and Kandaswamy M. 1999. Synthesis, spectral, electrochemical and magnetic properties of new symmetrical and unsymmetrical dinuclear copper(II) complexes derived from binucleating ligands with phenol and benzimidazole donors. *Polyhedron* 18: 1355-1362.