

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Ecole Nationale Polytechnique

Département de Génie de l'environnement

Laboratoire de Biotechnologies Environnementales

et Génie des Procédés



Mémoire de Magister en Ingénierie et Environnement

Option : Biotechnologie et Environnement

Présenté par :

HAMDI Nejla

Ingénieur d'état en génie biologique de l'USTHB

Intitulé

Iodation électrophile de molécules aromatiques activées. Application : molécules sondes fluorescentes et molécules radioiodées

Soutenu publiquement le 29/09/2012 devant le jury composé de :

Président :	MAMERI Nabil	Professeur	ENP
Rapporteur :	GRIB Hocine	MCA	ENP
Examineurs :	BACHARI Khaldoun	DR	CRAPC
	ABDI Haider Nadia	Professeur	ENP
	LOUNICI Hakim	CU	BOUIRA

ENP 2012

Laboratoire (BIOGEP) Ecole Nationale Polytechnique (ENP)

10, Avenue des Frères Ouadek, Hassen badi, BP.182, 16200 El Harrach, Alger, Algérie

www.enp.edu.dz

ملخص:

إن العديد من مشتقات الكومارين تعد من أهم الأصناف الدوائية فمنها ما هو مستعمل كمجس تألقي في مجالات مختلفة منها الفيزياء، الكيمياء الحيوية، البيئة وصناعة الأدوية. إن أهمية هذه التطبيقات دفعت بنا إلى دراسة تفاعل اليودنة الالكتروفيلية الأروماتية لبعض مشتقات الكومارين اخترنا منها خمسة للبحث على أحسن طريقة للوسم باليود ^{125}I المشع. لقد اعتمدنا في كل مراحل هذه الدراسة، وقدر الإمكان كل متطلبات الكيمياء الخضراء. وهكذا تم توظيف كل التقنيات البسيطة للكيمياء النظرية المتاحة لدينا في ميدان التسمية، دراسة البنية الجزيئية، الخصائص وحتى النشاط الكيميائي. إن اعتماد هذه التقنيات وخاصة قدرتها على التكهّن مكنا من ربح في الوقت لا يستهان به كما سمحت بالتوصل إلى طرق اقتصادية في كميات الكواشف والمذيبات المستعملة. وانطلاقاً من هذا تمكنا من عدم دراسة بعض مركبات الكومارين غير الملائمة لدراسة التفاعل المقصود ونتج عن ذلك تجنب تجارب غير مجدية. إن كل الدراسات التمهيدية أجريت من أجل التوصل إلى أحسن طريقة يتم بها تفاعل الوسم باليود ^{125}I المشع. لقد تم التحكم والمصادقة على تفاعل أحادي اليودنة باليود "البارد" بدراسة RMN البروتون وطبق بعدها على تفاعل الوسم باليود ^{125}I المشع لاستعمال القدر الكافي منه وتقادي الإنتاج المفرط من النفايات المشعة. إن اعتماد هذه الدراسة سمح باختيار مركب 4-ميثيل-7-هيدروكسي كومارين المنسوب لمجموعة A من مركبات التآلق (وهو مجس متألق pH). لقد تم الوسم الإشعاعي لهذا المركب بمرود مقبول يناهز 64.5% ونقاوة إشعاع كيميائي 99.89% مع نشاط نوعي $18.83\mu\text{Ci}/\mu\text{g}$.

للاستدلال: كومارين , اليودنة , كيمياء نظرية, كيمياء خضراء, يود 125 , وسم إشعاع

Résumé

Beaucoup de dérivés de la coumarine appartiennent à des classes thérapeutiques diverses, d'autres sont utilisés comme sondes fluorescentes dans de nombreux domaines (physique, chimie, biochimie, environnement, industrie pharmaceutique). L'importance de ces applications nous a incité à entreprendre l'étude de la réaction d'iodation électrophile aromatique de cinq dérivés de la coumarine afin de mettre au point une stratégie de marquage à l'iode 125. Pour toutes les étapes de cette étude nous avons cherché à travailler selon les préceptes de la « chimie verte ». Ainsi pour la partie nomenclature, structure, propriétés et même réactivité nous avons fait appel à l'ensemble des techniques basiques de la chimie théorique mis à notre disposition. L'apport de ces techniques et en particulier leur capacité de prédictions nous ont permis un gain de temps appréciable et une économie de réactifs et de solvants non négligeable. Ainsi les coumarines jugées non adaptées à la réaction recherchée ont pu être éliminées du pool de l'expérience ce qui a contribué à la limitation des expériences inutiles. Toutes les études préliminaires ont été effectuées dans le but d'optimiser la réaction de radiomarquage à l'iode 125. La méthode de monoiodation à l'iode « froid » a été validée par analyse en RMN du proton puis appliquée au radiomarquage afin d'utiliser juste la quantité d'iode 125 nécessaire et diminuer les déchets radioactifs. La molécule sélectionnée est la 4-méthyl-7-hydroxycoumarine ou 4-méthylumbelliférone appartenant à la classe A des fluorophores (sonde fluorescente de pH). Le radiomarquage de cette coumarine a donné un rendement satisfaisant 64.5% avec une pureté radiochimique de 99.89% et une activité spécifique de $18.83\mu\text{Ci}/\mu\text{g}$.

Mots-clés : dérivés de la coumarine, iodation, chimie théorique, chimie verte, radiomarquage, Iode 125.

Abstract

Many coumarin derivatives belong to various therapeutic classes; others are used as fluorescent probes in many fields (physics, chemistry, biochemistry, environmental, pharmaceutical industry). The importance of these applications has prompted us to undertake study of the reaction of aromatic electrophilic iodination of five coumarin derivatives to develop a strategy for labeling with iodine 125. For all stages of this study we sought to work according to the precepts of the "green chemistry". So, for the nomenclature part, structure, properties and even reactivity we called all the basic techniques of theoretical chemistry at our disposal. The contribution of these techniques and in particular their predictive capacities allowed us a time saving and significant economy of reagents and solvents. Thus coumarins not considered appropriate in the desired reaction could be eliminated from the pool of experience which contributed to the limitation of unnecessary testing. All studies work has been conducted in order to optimize the radiolabeling with iodine 125. The iodination method with «cold» iodine was validated by proton NMR analysis and then applied to the radiolabeling to use just the necessary amount of iodine 125 and reduce radioactive waste. The selected molecule is 4-methyl-7-hydroxycoumarin or 4-methylumbelliferone belonging to class A of fluorophores (fluorescent probe of pH). The coumarin radiolabelling with iodine 125 has achieved a satisfactory yield of 64.5% with a radiochemical purity of 99.89% and a specific activity of $18.83\mu\text{Ci}/\mu\text{g}$.

Keywords: Coumarin derivatives, iodination, theoretical chemistry, green chemistry, radiolabelling, Iodine 125

« Face à la roche, le ruisseau l'emporte toujours, non pas par force mais par la persévérance. »

H. Jackson Brown

Dédicaces

Je dédie ce mémoire :

À mes très chers parents avec affection et reconnaissance

À mon fils

À mon époux

À mes frères

À toutes mes amies

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé sous la direction du Docteur Grib H., directeur du laboratoire de biotechnologies environnementales et génie des procédés, à qui j'adresse ma profonde gratitude pour les conseils éclairés et les encouragements qu'il n'a cessé de me prodiguer tout au long de ce travail.

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements aux Professeurs Abdi N., Bachari K., et Lounici H., d'avoir accepté de juger ce travail en qualité d'examineurs, ainsi qu'au Professeur Mammeri N., pour avoir accepté de présider le jury.

Je tiens à exprimer mes plus vifs remerciements :

- A tous les membres de l'équipe Hétérocycle du LCOA (Laboratoire de Chimie Organique appliquée) de la faculté de chimie de l'université Houari Boumediene, en particulier tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.
- A Monsieur le Directeur général du Centre de Recherche Nucléaire de Draria, Magnouche AEH., en acceptant la poursuite de mon cursus universitaire ainsi que l'exécution d'une partie de mon travail au sein de son établissement.
- A Monsieur Allek M., Directeur de la Division des Radioisotopes du centre de Recherche Nucléaire de Draria, pour son aide, son soutien et sa grande disponibilité.
- A Monsieur BENZAID A., Chef du département Physique et Applications Nucléaires (DPAN) pour avoir accepté que je réalise une partie de mon travail au sein de son département.
- A Monsieur BENHIDOUR AEK., responsable du Laboratoire de Recherche et Développement sur les Anticorps monoclonaux, laboratoire dont je fais partie, pour sa disponibilité et son aide précieuse tout au long de ce travail.

Je ne saurais oublier mes chères collègues de la Division des Radioisotopes du centre de Recherche Nucléaire de Draria, particulièrement Ladjouzi F., Hadjrabia S., Bendjazia S., et Haddadi D.

ABREVIATIONS

Bq	Becquerel
°C	Température en degrés Celsius
CAT	Chloramine T
CCM	Chromatographie Couche Mince
Ci	Curie
CLHP	Chromatographie Liquide Haute Performance
cm	centimètre
Cpm	Coups par minute
δ	déplacement chimique
DCM	Dichloromethane
g	gramme
GBq	Giga Becquerel
FLIP	<i>Fluorescence</i> Loss In Photobleaching
FRAP	Fluorescence redistribution after photobleaching
Hz	Hertz
H ₂ O ₂	Peroxyde d'Hydrogène
H ₂ SO ₄	Acide sulfurique
ITLC	Instant Thin Layer Chromatography
I ₂	Iode
J	Constante de couplage exprimée en Hertz
Kev	Kilo électron volt
m	mètre
mL	millilitre
mL/mn	millilitre par minute
mmol	millimole
mol/L	Mole par litre
MeOH	Méthanol
Mev	Méga électron volt
μ m	micromètre

NaOCl	Hypochlorite de sodium
NaOH	Hydroxyde de sodium
Na ₂ S ₂ O ₃	Thiosulfate de sodium
PM	PhotoMultiplificateur
ppm	Partie par million
R _f	Référence de front de migration
RMN	Résonance magnétique Nucléaire
SEA	Substitution Electrophile Aromatique
T/mn	Tours par minute
TEMP	Tomographie par Emission Mono Photonique
TEP	Tomographie par Emission de Positons
TMS	TetraMethylSilane
UV	Ultra Violet

TABLE DES MATIERES

Résumé	
Dédicaces	
Remerciements	
Abréviations	
Introduction générale.....	12
I-Généralités.....	15
I-1-Les dérivés coumariniques.....	15
I-2-La chimie verte.....	17
I-3-Synthèse organique par micro-ondes.....	17
I-4-Les logiciels de prédiction ou la chémoinformatique.....	20
I-5-La lipophilie	21
I-6-Les radiopharmaceutiques.....	21
I-7-Stratégie de marquage.....	22
I-7-1-Critères de sélection de l'isotope.....	22
I-7-1-1-Le type et l'énergie du rayonnement.....	22
I-7-1-1-1-Le rayonnement α	22
I-7-1-1-2-Le rayonnement β	23
I-7-1-1-3-le rayonnement γ	23
I-7-1-2 –la demi-vie.....	23
I-7-1-3- Le mode de production.....	24
I-7-2- Caractéristiques idéales d'un isotope.....	24
I-7-3-L'iode 125.....	24
I-7-3-1-Propriétés physiques et domaines d'application.....	24
I-7-3-2- Rendement de marquage.....	25
I-7-3-3-Pureté radiochimique	25
I-7-3-4-Activité spécifique.....	25
I-7-4-Méthodes de radioiodation.....	26
I-7-4-1-Substitution nucléophile.....	26
I-7-4-2-Substitution électrophile.....	26
I-7-4-3-Mécanisme générale de la substitution électrophile aromatique.....	27
I-7-4-4-Les agents d'iodation.....	28
I-7-4-5-Les agents d'oxydation.....	28
I-7-4-5-1- La chloramine-T	28
I-7-4-5-2- Hypochlorite de sodium (Eau de javel)	29
I-7-4-5-3- Peroxyde d'hydrogène ou eau oxygénée	30
I-8-Technique utilisées pour la caractérisation	30
I-8-1-Méthodes et techniques de purification.....	30
I-8-1- 1-Méthodes et techniques chromatographiques.....	30
I-8-1-1-1-La chromatographie sur couche mince.....	31
I-8-1-1-2-Chromatographie liquide haute pression (CLHP).....	32
I-8-1-2- La recristallisation.....	33
I-8-2-Les techniques d'identification structurale.....	33
I-8-2-1- La Résonance Magnétique Nucléaire (RMN).....	34
I-8-2-1-1- RMN monodimensionnelle (RMN – 1D).....	34
* RMN proton (1H)	
* RMN carbone (13C)	
I-8-2-1-2- RMN bidimensionnelles (RMN – 2D).....	35
I-8-3- La spectroscopie Ultra-Violet (UV).....	35
I-8-4- La spectroscopie de fluorescence.....	36

II-MATERIEL ET METHODES.....	40
II-1-Matériel.....	40
II-1-1-Réactifs et produits chimiques.....	40
II-1-2-Instruments pour les études analytiques.....	41
II-2-Méthodes.....	43
II-2-1- Etude théorique par logiciel.....	43
II-2-2- Etude expérimentale.....	44
II-2-2-1-Etude UV et fluorescence des composés A-E.....	44
II-2-2-2 Synthèses et caractérisation des dérivés iodés A-E.....	44
II-2-2-3 Synthèse « verte » du composé C.....	44
II-2-2-4 Détermination des paramètres de la réaction d'iodation.....	46
II-2-2-4-1-Etude de l'effet de l'agent oxydant et du temps de réaction.....	46
II-2-2-4-2 Etude de l'effet du rapport molaire composé C/agent d'iodation.....	47
II-2-2-5- Marquage du composé C à froid.....	47
II-2-2-6- Marquage du composé C à l'iode 125.....	47
II-2-2-6-1-Radioprotection.....	47
II-2-2-6-2-Protocole de la réaction de marquage du composé C.....	48
II-2-2-6-3-Purification.....	48
II-2-2-7- Contrôle de qualité du composé C marqué à l'iode 125.....	48
II-2-2-7-1- Contrôle du rendement de marquage.....	49
II-2-2-7-2- Contrôle de la pureté radiochimique (PRC).....	49
II-2-2-7-3-L'activité spécifique.....	50
III-RESULTATS ET DISCUSSIONS.....	52
III-1- Etude théorique par logiciel.....	52
III-1-1- Calcul semi-empirique de la répartition des charges par le logiciel Gaussian03.....	52
III-1-1-1-Répartition AM1 des charges des composés A-E.....	52
III-1-1-2-Répartition PM3 des charges des composés A-E.....	52
III-1-1-3-Répartition PM3 des charges des composés mono-iodés A-E.....	53
III-1-2- Déplacement chimique en RMN du proton des composés A-E prédit par le logiciel ChemNMR.....	53
III-1-3- Caractère lipophile prédit par le logiciel ChemSketch.....	56
III-2- Etude expérimentale.....	57
III-2-1-Caractérisation UV et fluorescence des composés A-E.....	57
III-2-1-1-Etude en UV.....	57
III-2-1-2-Etude en fluorescence.....	58
III-2-2-Synthèse de dérivés iodés des composés A-E.....	58
III-2-3-Synthèse « verte » du composé C.....	59
III-2-4-Caractérisation par RMN.....	60
III-2-4-1- Le composé C.....	60
III-2-4-2- Le composé C iodé à la chloramine T.....	60
III-2-5- Caractérisation par CLHP du composé C et du composé C iodé à la chloramine T.....	61
III-2-6- Etude de l'effet de l'agent oxydant et du temps de réaction.....	67
III-2-6-1-Caractérisation par RMN.....	67
III-2-6-1-1-Le composé C iodé avec un excès de chloramine T.....	67

III-2-6-1-2-Le composé C iodé à l'hypochlorite de sodium.....	68
III-2-7- Caractérisation par CLHP.....	68
III-2-7-1-Le composé C iodé à l'hypochlorite de sodium.....	68
III-2-7-2-Le composé C iodé au peroxyde d'oxygène.....	70
III-2-8- Etude du rapport molaire composé C/agent d'iodation.....	73
III-2-9- Marquage du composé C à froid	74
III-2-10-Contrôle de qualité du composé C marqué à l'iode 125.....	74
III-2-10-1- Contrôle du rendement de marquage.....	74
III-2-10-2- Contrôle de la pureté radiochimique (PRC).....	74
III-2-10-3-L'activité spécifique.....	74
III-3-Discussion générale.....	76
Conclusion	79
Références bibliographiques.....	81
Annexes.....	88

INTRODUCTION GENERALE

Introduction générale

De nos jours, le développement de nouvelles molécules d'intérêt thérapeutique est une quête permanente pour les scientifiques impliqués dans ce secteur, la réaction d'iodation électrophile figure parmi les réactions qui permettent de modifier la structure d'un composé afin de lui conférer de nouvelles propriétés thérapeutiques.

Les dérivés de la coumarine sont des composés hétérocycliques qui présentent des propriétés pharmaceutiques très variées. Plusieurs familles de ces produits sont d'origine naturelle et leur synthèse a donné lieu à des médicaments appartenant à de nombreuses classes thérapeutiques.

Certains des dérivés de la coumarine (dérivés activés) possèdent des propriétés de fluorescence intéressantes qui en font de bons candidats pour les études concernant les sondes chimiques fluorescentes.

L'objectif de ce travail est l'étude de la réaction d'iodation électrophile de cinq (05) dérivés de la coumarine afin de mettre au point une stratégie de marquage à l'iode 125 et d'en étudier le potentiel en tant que radiopharmaceutique. Il s'agira aussi de choisir le ou les composés les mieux adaptés à la réaction d'iodation.

A notre connaissance, il n'y a pas eu d'étude du radiomarquage à l'iode 125 de ces dérivés coumariniques, ce qui confère à notre travail un caractère original.

L'usage des radiopharmaceutiques à des fins diagnostiques ou thérapeutiques mène à la production d'effluents et de déchets radioactifs dont les modalités de gestion doivent prendre en compte les caractéristiques radiologiques des radionucléides utilisés [1].

Ainsi, pour des raisons de sécurité et de gain de temps, il est judicieux de procéder d'abord à des essais d'iodation « à froid », de mettre en place le protocole et d'en étudier les différents paramètres afin d'assurer les meilleures conditions pour les marquages radioactifs.

La synthèse du ou des dérivé de la coumarine choisis sera réalisée selon les concepts de « la chimie verte » c'est-à-dire dans les conditions les plus respectueuses de l'environnement (sans solvant toxique ou faibles quantités de solvant, usage de l'irradiation micro-ondes pour l'économie de l'énergie et pour limiter les temps de réaction). Pour cette synthèse l'iode a été utilisé aussi bien pour l'iodation que pour la catalyse de la réaction de cyclisation.

Les coumarines et leurs dérivés iodés synthétisés seront caractérisés par différentes méthodes : UV, fluorescence, CLHP et RMN.

Le travail de thèse s'articule en deux parties :

- La première partie est consacrée à une étude théorique, réalisée à l'aide de différentes méthodes basiques de la chimie théorique qui permettent de prévoir les sites de l'iodation par calcul des charges des différents atomes des cinq dérivés et par prédiction des déplacements chimiques en RMN du proton. L'étude théorique de la lipophilie des cinq dérivés sera également effectuée, elle sera nécessaire dans la compréhension de l'impact de l'iodation sur la lipophilie des cinq dérivés.

Introduction générale

- La deuxième partie est consacrée à la mise au point d'un protocole d'iodation « à froid » appliqué aux dérivés de la coumarine, plusieurs oxydants seront utilisés, le ou les composés ayant le mieux répondu à l'iodation seront candidats au radiomarquage.

Enfin, le ou les composés candidats au marquage radioactif le seront selon un protocole inspiré de la méthode optimisée de la réaction d'iodation, puis un contrôle de qualité sera effectué sur le composé marqué.

GENERALITES

I-Généralités

I-1-Les dérivés coumariniques

La coumarine, est le nom usuel désignant la 2H-1- benzopyrane-2-one (Figure 1), c'est une molécule odorante extraite de la fève tonka, qui est le fruit du coumarou (*Dipteryx odorata*) arbre originaire de Guyane .Elle est présente aussi dans diverses autres plantes comme l'aspérule odorante (*Galium odoratum*) ou gaillet odorant et la cannelle de Chine (*Cinnamomum aromaticum*) . Les coumarines sont des composés phénoliques végétaux, portant un noyau benzénique dans leur structure [2]. En plus de la coumarine elle même, de nombreuses molécules d'origine végétale renfermant le noyau coumarinique sont décrites (Annexe 1) [3].

Elle est employée dans l'industrie des cosmétiques comme crème pour cure de bronzage [2], dans la parfumerie comme base pour certains parfums et déodorants [4] et dans l'élaboration de certains colorants lasers [5].

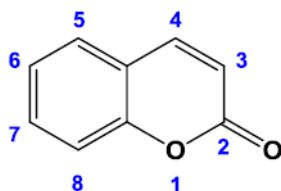


Figure 1 : Structure de la 2H-1- benzopyrane-2-one

D'une manière plus générale, la classe des molécules dérivées de la coumarine est très vaste puisque six positions peuvent être substituées.

Les coumarines synthétiques sont utilisées en médecine pour leurs propriétés anti-coagulantes et anti-convulsivantes [6], anti tumorales [7], anticancéreuses [8], antifongiques[9],antibactériennes [10], insecticides ou anti oxydantes[11,12] anti-inflammatoires [13,14,15] et inhibitrices de l'acétylcholinestérase[16] .

Les coumarines sont des hétérocycles aromatiques de forte conjugaison, ce qui en fait de bons candidats pour la fluorescence. La coumarine elle-même est relativement peu fluorescente, mais des substitutions appropriées mènent à des composés fortement fluorescents : la substitution par un atome donneur en position 7 entraîne une augmentation du rendement quantique de fluorescence, typiquement supérieur à 70%. En revanche, il est connu que les substitutions dans d'autres positions conduisent généralement à des composés très peu fluorescents [17,18-21].

Les coumarines présentent un déplacement de Stokes important (c'est la différence, en longueur d'onde ou en fréquence, entre la position du pic du spectre d'absorption et celle du pic du spectre de fluorescence) : la modification importante de la répartition des charges entre l'état fondamental et l'état excité entraîne une forte réorganisation du solvant [22]. Les propriétés acido-basiques particulières des coumarines, en font de bonnes sondes fluorescentes du pH.

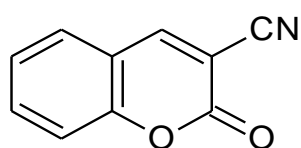
Les dérivés de la coumarine sont des substances occupant une place prépondérante dans la synthèse organique et présentant donc un intérêt considérable en biologie et en

Généralités

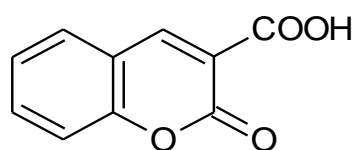
pharmacologie. Ces molécules continuent de retenir l'attention des chercheurs et de l'industrie, de nombreux travaux ont été réalisés afin d'augmenter leurs activités biologiques par le biais de la modification de leurs structure réalisée par synthèse chimique.

Cinq dérivés de la coumarine (notés A à E) ont été étudiés durant ce travail, ils sont connus dans la littérature [23], leurs propriétés chimiques sont mentionnées en annexe 2. Leur synthèse est maîtrisée et ont été gracieusement fournis par le laboratoire de chimie organique appliquée (LCOA) de la faculté de chimie de l'USTHB.

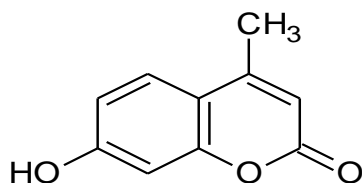
Les cinq dérivés de la coumarine sont présentés dans la figure 2, la nomenclature utilisée est celle donnée par le logiciel ChemSketch.



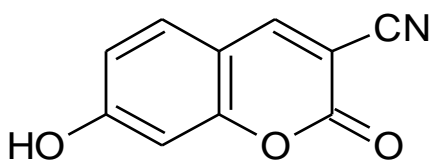
A: 2-oxo-2H-chromene-3-cyano



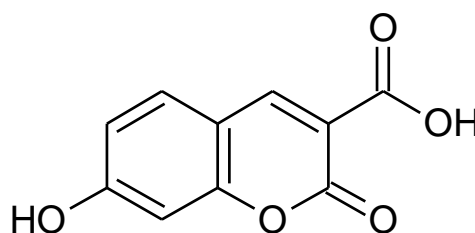
B: 2-oxo-2H-chromene-3-carboxy



C: 7-hydroxy-4-methyl-2-2H-chromene



D: 7-hydroxy-2-oxo-2H-chromene-3-cyano



E: 7-hydroxy-2-oxo-2H-chromene-3-carboxy

Figure 2 : Les cinq dérivés de la coumarine

I-2-La chimie « verte »

Garder le meilleur de la chimie tout en réduisant, voire en éliminant, les nuisances bien réelles qu'elle engendre, c'est ce qu'a entrepris à la fin des années 1990, le chimiste américain Paul Anastas, appartenant à l'EPA (Environmental Protection Agency), en formulant les douze grands principes d'une *green chemistry*, aujourd'hui mondialement reconnus [24].

La définition de la chimie verte, précise que la conception des produits chimiques doit tenir compte de la réduction ou de l'élimination des substances dangereuses. En découlent 12 principes (voir annexe 3), toujours d'actualité, qui préconisent un choix plus avisé des matières premières utilisées et des substances favorisant la réaction. Les chimistes doivent mettre en œuvre tout leur savoir-faire pour concevoir des réactions qui économisent les atomes (qui ne produisent pas de molécules secondaires inutiles, voire nocives) et qui économisent l'énergie (par exemple, les réactions à des températures peu élevées).

Dans notre étude, la synthèse des dérivés de la coumarine a été faite de façon à minimiser l'impact des réactions sur l'environnement, en utilisant peu ou pas de solvant, en employant des catalyseurs et en réduisant les temps de réaction par utilisation du micro-onde.

I-3-Synthèse organique par micro-ondes

En raison de leur faible longueur d'onde, les rayonnements électromagnétiques usuels (lumière visible, infrarouge) pénètrent peu la matière. Par contre, les micro-ondes aux longueurs d'ondes centimétriques ou décimétriques, possèdent des profondeurs de pénétration dans les matériaux d'environ 10 cm [25]. Ils occupent le domaine des valeurs de longueurs d'onde λ , comprises entre 1 cm et 1m (Figure 3). La bande allouée à la législation internationale aux utilisations industrielle, scientifique, médicale et domestique correspond à une fréquence ν de 2450 Hz soit une longueur d'onde λ de 12,2 cm).

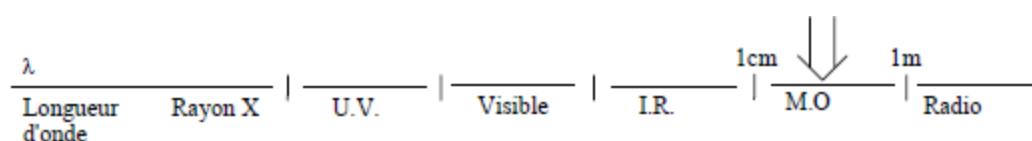


Figure 3 : Domaines du spectre électromagnétique

La chimie sous champ micro-onde (Figure 4) est une technique de plus en plus utilisée. Elle est à la fois simple à mettre en œuvre, rapide et sélective.

C'est au cours des années 1975 que les micro-ondes sont apparues dans les laboratoires [26].

Préalablement utilisés pour sécher la verrerie ou réaliser des réactions de minéralisations, ce n'est que dans les années 1980 [27,28], que les micro-ondes se sont révélés être un bon outil pour réaliser de la synthèse organique.

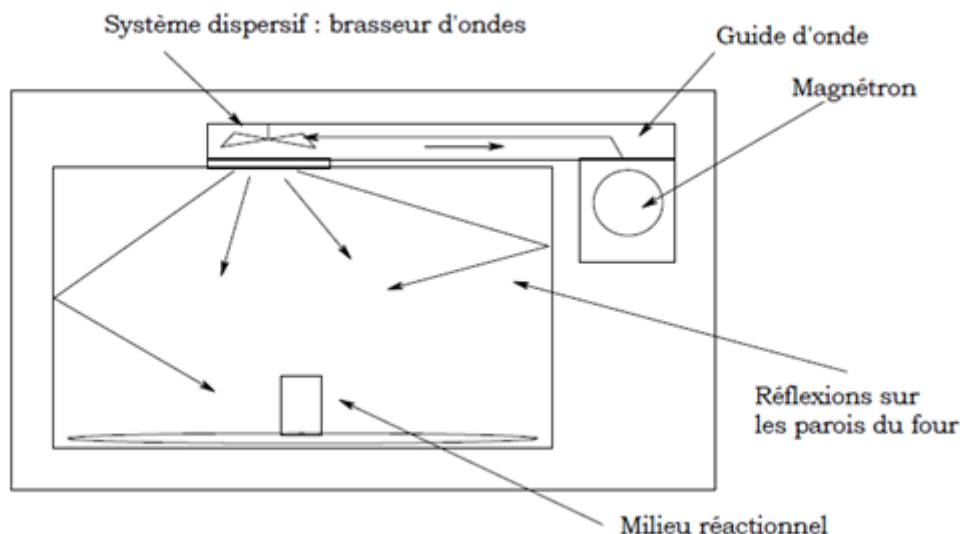


Figure 4 : Schéma de principe d'un four domestique

Un chauffage au cœur de la matière assure une efficacité considérable au transfert d'énergie (les synthèses se font en quelques minutes) .L'augmentation de la sélectivité et du rendement d'un grand nombre de réactions ont fait que l'intérêt pour cette technique s'est très vite développé [29-32].

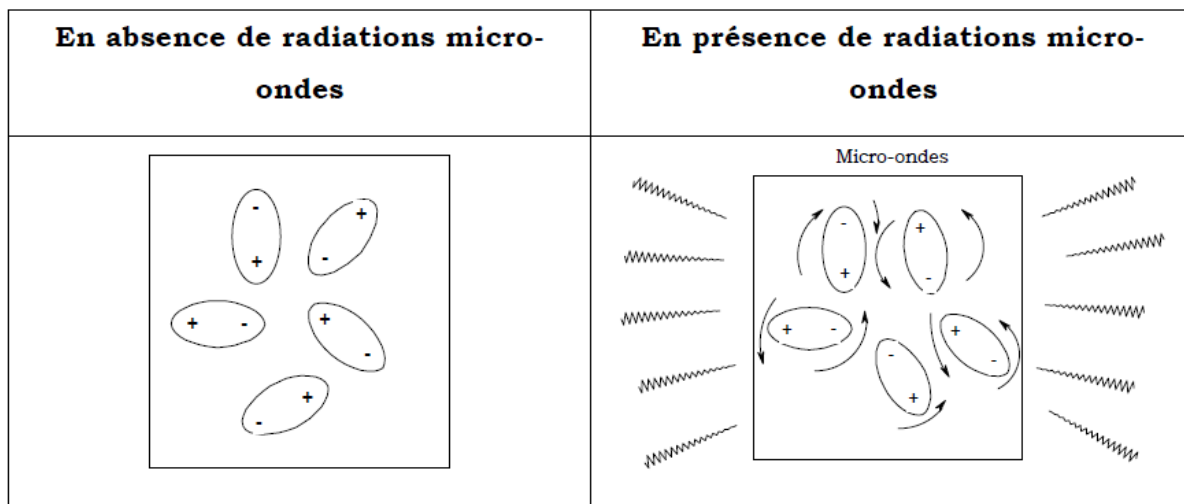


Figure 5 : Agitation moléculaire sous irradiation micro-ondes

Cette nouvelle approche de la synthèse chimique rentre dans le cadre de la « chimie verte » [33,34], elle a séduit un bon nombre de laboratoires qui cherchent à développer la chimie dans le respect de l'environnement. Cette approche développée en parallèle avec la sonochimie [35], la synthèse en milieu aqueux [36,37] ou en liquides ioniques, la chimie sur support solide [38] et la microchimie [39], permet d'initier à une nouvelle approche de la synthèse en laboratoire : travailler avec des petites quantités, dans des conditions douces, avec des réactifs peu agressifs, en utilisant le moins de solvants possible.

Les micro-ondes possèdent la particularité d'interagir avec des molécules présentant un moment dipolaire permanent non nul [40], créant ainsi un échauffement local par agitation moléculaire. Un solvant peut rapidement monter en surébullition [41], ce qui peut représenter un danger.

Le pouvoir d'activation important des micro-ondes combiné avec la chimie sur support solide permet donc de s'affranchir de travailler avec des réactifs agressifs, et donc toxiques et de réaliser la synthèse dans des conditions beaucoup plus douces, dans des solvants beaucoup moins toxiques ou sans solvant quand c'est possible. La chimie en solution reste néanmoins un outil de choix particulièrement en synthèse hétérocyclique

L'activation micro-onde résulte de deux contributions :

- une d'origine purement thermique résultant de l'agitation moléculaire (Figure 5) causée par l'inversion des dipôles avec alternances du champ électrique.
- Une contribution spécifique, d'origine électrostatique résultant du phénomène de polarisation dipolaire.

L'intérêt relatif de ces deux effets peut être apprécié en comparant les résultats obtenus sous micro-onde ou par chauffage classique (dans un bain d'huile thermostaté) toutes les conditions égales par ailleurs (temps, température...) (Figure 6).

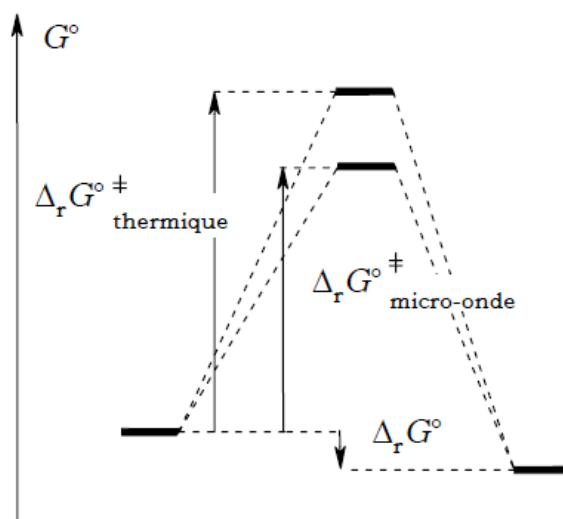


Figure 6 : Comparaison énergie libre Activation Micro-onde et thermique

Ce type d'activation est pratiqué à l'échelle du laboratoire aussi bien en synthèse simple, qu'en synthèse parallèle.

La synthèse chimique sous micro-ondes constitue donc une technique de plus en plus utilisée en synthèse organique. Destinée à tester rapidement et avec des rendements appréciables de nouvelles voies de synthèses, quelques essais de synthèses industrielles ont été réalisés mais c'est surtout en laboratoire que l'on pratique ce type d'activation, en synthèse simple comme en synthèse parallèle ou en chimie combinatoire.

I-4-Les logiciels de prédiction ou la chemoinformatique

La notion de chemoinformatique a émergé pour la première fois lors du développement d'un médicament en 1998 [42].

La chemoinformatique est une discipline scientifique qui a évolué dans les 10 dernières années à l'interface entre la chimie et l'informatique. Il a été constaté que, dans de nombreux domaines de la chimie, l'énorme quantité de données et d'informations produites par la recherche en chimie ne peut être traitée et analysée que par les méthodes assistées par ordinateur.

Ainsi, des théories ont été développées pour la construction des bases de données sur les composés chimiques et leurs réactions, pour la prédiction des propriétés physiques, chimiques et biologiques des composés et des matériaux à l'échelle de l'atome et de la molécule. Elles sont appliquées dans de nombreux secteurs de l'activité de recherche : la conception des médicaments, la détermination des structures, la prévision des réactions chimiques et conception de synthèse organique.

C'est une branche de la chimie et/ou de la physico-chimie qui utilise les lois de la chimie théorique exploitées dans des codes informatiques spécifiques afin de représenter les structures et propriétés d'objets chimiques (molécules, solides, surfaces ou autres), en appliquant autant que possible ces programmes à des problèmes chimiques réels.(@2)

Lors de notre étude théorique, trois logiciels ont été utilisés :

- **GAUSSIAN03 (2003)**: est un logiciel de chimie numérique, créé à l'origine par John Pople et sorti en 1970 [43]. Il a été depuis sans cesse mis à jour. Il est rapidement devenu un programme de structure électronique très populaire et largement utilisé. Il a été utilisé dans notre étude pour le calcul des répartitions des charges des cinq dérivés coumariniques.
- **ChemNMR H-1 Estimation (11.0)** : Permet l'évaluation théorique des déplacements chimiques des spectres ¹H et ¹³C en RMN.
- **ChemSKETCH (ChemDraw ULTRA 8.0 et Chem3D Ultra8.03)** : C'est un logiciel qui permet de représenter la structure des molécules et entre autre de prédire la valeur de LogP des composés étudiés, cette valeur est utilisée dans la détermination du caractère lipophile.

Pour les trois logiciels la structure chimique est utilisée comme donnée.

I-5-La lipophilie

Le caractère lipophile des dérivés coumariniques étudiés a été déterminé par le logiciel Chemskech. La lipophilie des composés est une grandeur mesurée en pratique par le coefficient de partage dans un mélange eau/octanol et qui est exprimée en $\log P_{\text{oct}}$.

La lipophilie représente le paramètre physico-chimique clé permettant d'interpréter et de prédire les phénomènes de transport des molécules à travers les membranes biologiques. Elle permet alors de prédire des phénomènes d'absorption ainsi que d'autres phénomènes intervenant dans le transport de métabolites.

L'étude du caractère lipophile de nos dérivés coumariniques revêt une grande importance en ce qui concerne la facilité avec laquelle ces substances pourront traverser les membranes plasmiques, de même qu'en ce qui concerne les interactions au niveau de leur récepteur. Ainsi il est donc important de disposer de moyen de prédire ces effets quantitativement [44].

Nous avons comme objectif d'étudier le potentiel radiopharmaceutique de nos dérivés iodés .Nous allons, dans ce qui suit, introduire quelques notions concernant les radiopharmaceutiques, la stratégie de marquage, et les propriétés de l'iode 125.

I-6-Les radiopharmaceutiques

Nous avons comme objectif d'étudier le potentiel radiopharmaceutique de nos dérivés iodés .Nous allons, dans ce qui suit, introduire quelques notions concernant les radiopharmaceutiques, la stratégie de marquage, Les radiopharmaceutiques utilisés en médecine nucléaire sont des médicaments contenant des radionucléides, employés à des fins diagnostiques ou thérapeutiques. Ces radionucléides peuvent être utilisés soit sous une forme chimique très simple, soit liés à des vecteurs spécifiques d'un organe, d'une fonction physiologique ou d'une pathologie : molécules organiques, analogues de molécules biologiques, anticorps monoclonaux, particules (colloïdes,...), cellules sanguines, etc. Ils se présentent soit sous forme de spécialité pharmaceutique contenant des radionucléides, livrées prêtes à l'emploi, soit sous forme de préparations radiopharmaceutiques réalisées à partir de troupes, précurseurs et générateurs.

Leur spécificité en tant que médicament repose sur plusieurs propriétés :

- Ils sont principalement utilisés à des fins diagnostiques mais également à des fins thérapeutiques,
- Ils sont souvent administrés en très faibles quantités,
- La durée d'utilisation du médicament peut être très courte (quelques minutes à quelques jours) en raison de la période physique du radionucléide,
- Ils se présentent sous la forme de sources non scellées, destinées à être administrées par voie veineuse ou orale, avec des activités variables selon l'utilisation, l'âge et le poids du patient.

Une méthode de marquage, pour être développée et utilisée en radiopharmacie doit être:

- Simple, avec le moins d'étapes possibles (une ou deux étapes).
- Rapide avec une durée en rapport avec sa demi-vie et si possible ne nécessitant pas d'étape de purification, ceci afin d'éviter une rupture de la chaîne de stérilité et de diminuer le temps de préparation.
- La pureté radiochimique doit être supérieure à 90 %.
- D'autres limitations interviennent dans la production de radiopharmaceutiques : concentration en biomolécules, solubilisation et dilution de toutes les préparations dans du sérum physiologique ou un tampon susceptible d'être injecté à l'homme, et délivrance du médicament sous forme stérile et apyrogène.

I-7-Stratégie de marquage

I-7-1-Critère de sélection d'un isotope

Les critères de sélection d'un isotope pour une utilisation optimale en médecine nucléaire sont essentiellement dépendants des propriétés nucléaires du radionucléide : le type et l'énergie du rayonnement, la demi-vie, et le mode de production.

I-7-1-1-Le type et l'énergie du rayonnement

Le choix du radionucléide inclus dans un radiopharmaceutique est fonction de son utilisation. Si le but est diagnostique, le radionucléide devra être émetteur des rayonnements pénétrants et peu ionisants pour limiter les risques dosimétriques tout en étant parfaitement détectable par voie externe. Par contre si le but est thérapeutique, la destruction de la cellule cible dépendra du caractère ionisant des rayonnements émis par le radionucléide.

Les différents types de rayonnements sont :

I-7-1-1-1-Le rayonnement α :

C'est un rayonnement très ionisant avec une énergie délivrée très importante, de l'ordre 6 à 7 Mev sur une courte distance, 50 à 90 μm . Par contre, il est peu pénétrant et est arrêté par une feuille de papier. Son utilisation en médecine nucléaire est très limitée [45]. Un exemple est l'utilisation d'astate-211 dans la thérapie [46].

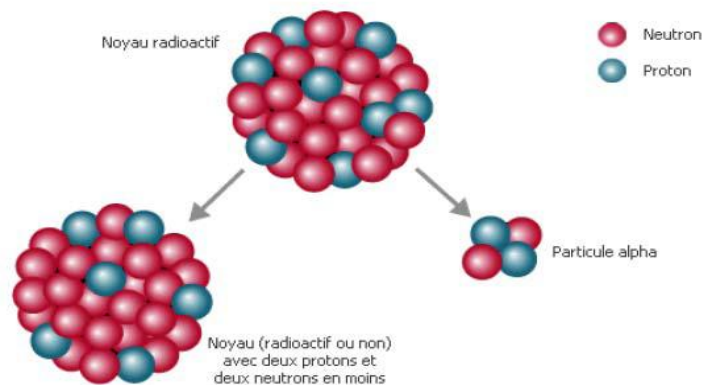


Figure 7 : La radioactivité alpha (α)

I-7-1-1-2- Le rayonnement β :

Deux types de rayonnement existent, selon que la particule émise est un électron (β^-) ou un positron (β^+). Le β^- avec une énergie de 2Mev et une distance parcourue de quelque μm à 10 mm est souvent utilisé en thérapie. Les émetteurs β^- les plus utilisés sont l'ytrium-90, le lutétium-177 et le rhénium 186/188. L'émission β^+ est utilisée en imagerie TEP (tomographie par émission de positons) diagnostique. Ces rayonnements interagissent avec les électrons du milieu et donnent deux photons γ de 511 Kev.

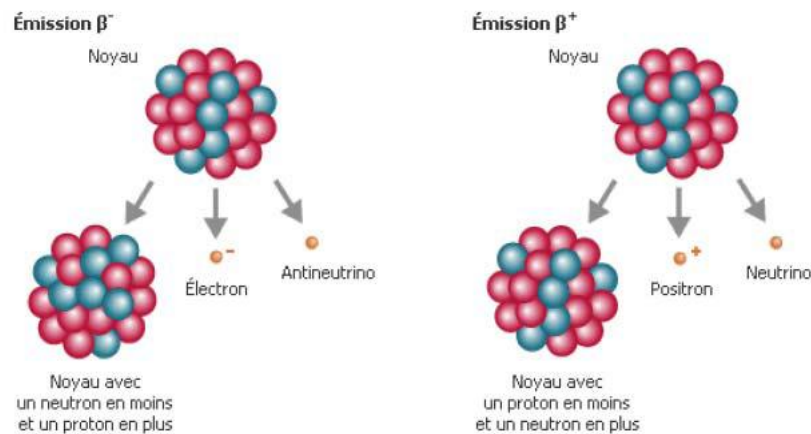


Figure 8 : La radioactivité béta (β)

I-7-1-1-3- Le rayonnement γ :

Les rayonnements γ sont constitués par des ondes électromagnétiques d'énergie très variable. Ils sont très pénétrants et peuvent traverser des épaisseurs importantes de matière [47]. A cause de ce caractère, les émissions γ peuvent être détectées par la caméra et sont donc utilisées en médecine nucléaire diagnostique. L'émission optimale pour les caméras actuelles se situe autour de 150 Kev (de 70 à 500 Kev).

I-7-1-2- La demi-vie

La demi-vie d'un isotope (le temps au bout duquel la radioactivité a diminué de moitié) doit être en relation avec la biodistribution de la molécule biologique (vecteur) à laquelle elle est associée et donc à la demi-vie biologique du radioligand. La demi-vie physique du radionucléide doit être suffisamment longue pour lui permettre d'atteindre sa cible, et suffisamment courte afin de limiter l'irradiation de l'organisme.

En outre, si la fixation du radiotracer sur la cible est spécifique, on préfère un isotope avec un demi-vie plus longue (par exemple : l'indium-111 à la place du technétium-99m).

De plus, la demi-vie détermine la possibilité d'utilisation d'un radionucléide à distance du lieu de sa production. Plus la valeur de demi-vie est courte, plus le rendement de production doit être élevé pour compenser la perte de radioactivité due à la décroissance.

I-7-1-3-Le mode de production

La sélection d'un radionucléide résulte d'un compromis entre ses caractéristiques nucléaires mais aussi sa disponibilité et son prix de revient qui découle de sa polyvalence d'utilisation. Les isotopes couramment utilisés en médecine nucléaire sont produits à partir de cyclotrons (tel que ^{123}I), de réacteurs nucléaires (^{131}I), ou de générateurs ($^{99\text{m}}\text{Tc}$). L'utilisation de générateurs permet de produire un isotope à moindre coût sur le site même de son utilisation.

I-7-2-Caractéristiques idéales d'un isotope :

❖ Pour une utilisation en imagerie diagnostic :

- En Tomographie par Emission Mono Photonique (TEMP), un radionucléide doit émettre un rayonnement γ pur d'une énergie comprise entre 100 et 200 Kev et sa demi-vie doit être relativement courte, comprise entre 6 et 8 heures, voire 24 heures.

- Dans le cadre de la Tomographie par Emission de Positons (TEP), l'isotope doit avoir une durée de vie compatible avec une utilisation en routine (> 1 heure), et l'émission doit être pure afin de limiter les contraintes de radioprotection.

❖ Pour une utilisation en thérapie :

- les radionucléides sont des émetteurs β^- dont l'énergie de rayonnement varie entre 0.5 Mev et 2 Mev et dont la composante γ est faible. La demi vie doit se situer entre 10 heures et 10 jours. La recherche sur l'utilisation de molécules marquées par un émetteur α se développe mais aucune molécule n'est utilisée en routine en médecine nucléaire.

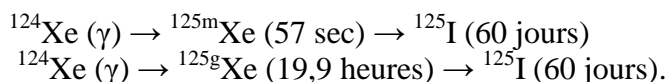
I-7-3-L'iode-125

I-7-3-1-Propriétés physiques et domaines d'application

Bien qu'environ 30 radio-isotopes artificiels d'iode aient été identifiés, seulement un isotope stable, l'iode-127, est retrouvé naturellement. Les trois radio-isotopes (^{123}I , ^{125}I et ^{131}I) ont été largement utilisés pour marquer de petites et grosses biomolécules.

En pratique, l'iode-125 ($t_{1/2}=59,9$ jours, émission γ $E=35$ keV) est employé pour des expériences *in vitro* (par exemple, pour des études préliminaires dans le développement d'un traceur destiné à l'imagerie), et en thérapie notamment dans le traitement du cancer de la prostate. Alors que l'iode-123 ($t_{1/2}=13,2$ heures, émission γ $E=159$ keV) est utilisé pour l'imagerie en médecine nucléaire, dans le diagnostic par scintigraphie ou Tomographie par Emission Monophotonique (TEMP). Enfin, l'iode-131 ($t_{1/2}=8$ jours, émission γ $E=364$ keV (83%) et émission β^- $E=606$ keV (90%)) est d'avantage employé en thérapie [48].

L'iode 125 provient généralement du bombardement du xénon gazeux par des neutrons dans un réacteur. Lors de l'irradiation, plusieurs radionucléides du xénon sont produits, tels que ^{125}Xe ($^{125\text{m}}\text{Xe}$ et $^{125\text{g}}\text{Xe}$ étant des intermédiaires instables de périodes de 57 secondes et 19,9 heures, respectivement). Ces derniers se désintègrent en ^{125}I .



L'iode 125 (Na^{125}I) est une molécule peu couteuse, assez peu ionisante, mais suffisamment énergétique pour que le rayonnement émis soit mesurable. Son émission particulaire (électrons Auger) permet d'envisager une utilisation thérapeutique chez l'homme [49].

Une molécule radiomarquée doit être évaluée par rapport au rendement de marquage, à la pureté radiochimique et à l'activité spécifique :

I-7-3-2-Rendement de marquage :

C'est le rapport de la radioactivité captée par la molécule à celle initialement introduite.

I-7-3-3-Pureté radiochimique

L'introduction d'un atome d'iode dans une molécule est généralement réalisée par la substitution nucléophile ou électrophile sur un atome de carbone. Dans le commerce, les radioisotopes de l'iode sont fournis sous forme d'iodures. Les iodures de sodium Na^{125}I sont disponibles en solution dans une solution de $\text{NaOH } 10^{-2} \text{ M}$ ou dans un tampon phosphate, alors que les iodures de sodium Na^{131}I et Na^{123}I sont uniquement disponibles dans une solution de $\text{NaOH } 10^{-2} \text{ M}$ pour le marquage des molécules.

La pureté radiochimique est définie comme étant la fraction des radio-isotopes présente sous leur forme chimique spécifiée. Selon le processus appliqué, pendant le stockage, le radio-iodide peut être contaminé par différentes espèces chimiques de l'iode radioactif. La plupart du temps, ce sont les formes oxydées qui apparaissent (I_2 , IO_2^- , IO_3^- et IO_4^-) à cause du potentiel d'oxydation des iodures et des processus radiolytiques. Puisque la pureté radiochimique de l'iode entrave les rendements radiochimiques des méthodes de marquages nucléophiles et électrophiles, elle doit être contrôlée par chromatographie sur couche mince (CCM) ou chromatographie liquide de haute performance (CLHP).

I-7-3-4-Activité spécifique

L'activité spécifique du radiopharmaceutique est le rapport entre l'activité du radionucléide et la masse totale de l'échantillon, et s'exprime en Becquerels (Bq) ou en curie (Ci) par mole (ou gramme).

$$1\text{Bq} = 1\text{désintégration par seconde}$$

$$1\text{Ci} = 3,7.10^{10} \text{ Bq}$$

La radioactivité spécifique maximale est atteinte lorsque le radionucléide est pur, inversement proportionnelle à sa période, elle est généralement évaluée pour une mole:

$$RAS_{\text{max}}(\text{Bq mol}^{-1}) = \frac{\ln 2 \times 6.023.10^{23}}{T_{1/2}} \quad RAS_{\text{max}}(\text{Ci mol}^{-1}) = \frac{\ln 2 \times 6.023.10^{23}}{T_{1/2} \times 3.7.10^{10}}$$

($T_{1/2}$ en sec)

La radioactivité spécifique ne doit pas être :

- Faible : dans ce cas le seuil de détection ne sera pas atteint
- Forte : dans ce cas, il se produira une radiolyse, ce qui engendre des impuretés et par conséquent, la molécule perd sa spécificité vis-à-vis du récepteur auquel elle est destinée [50].

I-7-4-Méthodes de radioiodation

Généralement, les méthodes classiques d'iodation employées dans la chimie de synthèse organique peuvent être employées pour la radiochimie. Cependant, ces méthodes doivent être adaptées en tenant compte de plusieurs paramètres tels que la demi-vie du radionucléide et les concentrations très faibles utilisées. Les réactions principales de radiomarquage à l'iode sont des substitutions nucléophiles ou électrophiles. La radioiodation directe (remplacement d'atome d'hydrogène par un atome de radioiode) représente une exception pour la substitution électrophile sur les composés aréniques.

I-7-4-1-Substitution nucléophile

Dans des réactions de substitution nucléophile (SN) le réactif attaquant (dans ce cas-ci le nucléophile est un anion d'iodure) apporte une paire d'électrons au substrat (l'électrophile) afin de former une nouvelle liaison et le groupe partant (le nucléofuge) est éliminé avec une paire d'électrons. Plusieurs mécanismes distincts sont possibles selon le substrat (aliphatique ou aromatique), le groupe partant et les conditions de réaction (le solvant, la température, etc...). La radioiodation par substitution nucléophile est souvent exécutée avec les composés aliphatiques et aromatiques selon la nature du groupe partant.

I-7-4-2-Substitution électrophile

La radioiodation électrophile est le processus selon lequel un iode de charge positive (I^+) attaque un système de forte densité électronique tel qu'un cycle aromatique ou une double liaison. En conséquence, une liaison covalente carbone-iode est formée par perte de la charge positive du groupe partant. Le groupe partant (l'électrofuge) doit nécessairement partir sans sa paire d'électrons. Les groupes partants les plus importants sont les acides de Lewis. La grande majorité des réactions électrophiles de radioiodation concerne la substitution aromatique.

I-7-4-3-Mécanisme général de la substitution électrophile aromatique (SEA) :

La première étape du mécanisme est une addition au cours de laquelle le composé électrophile A^+ réagit avec un doublet électronique du cycle aromatique (Figure 9). Cette étape nécessite généralement une catalyse par un acide de Lewis. Cette addition conduit à la formation d'un carbocation cyclohexadiényle connu sous le nom d'*intermédiaire de Wheland* (ou *complexe σ* , ou encore *ion arénium*). Ce carbocation est instable, puisqu'il correspond à la fois à la présence d'une charge sur la molécule et à une perte d'aromaticité. Il est néanmoins stabilisé par mésomérie : la charge est en réalité délocalisée sur plusieurs atomes du cycle aromatique. Au cours de la seconde étape, un atome d'hydrogène lié au cycle ayant subi l'addition électrophile part en tant qu'ion H^+ . Le doublet électronique qui était utilisé pour la liaison C-H permet alors au système de retrouver son aromaticité (@1).

Généralités

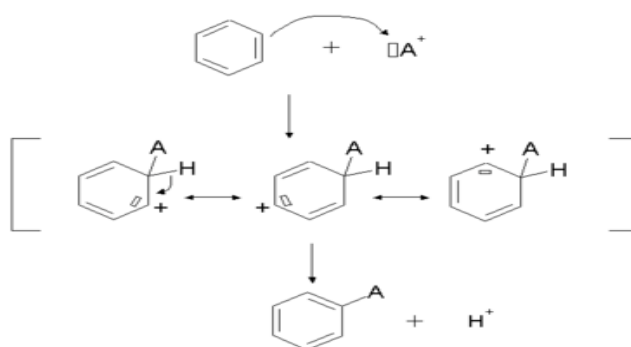


Figure 9 : Schéma général de la SEA

La substitution électrophile dépend de la basicité du noyau aromatique, basicité influencée par ses substitutions :

- Les substituants activateurs sont ceux qui produisent un effet inducteur ou mésomère : groupe alkyle, aryle, $-NH_2$, $-NHR$, $-NR_2$, $-OH$, $-OR$
- Ceux qui désactivent : $-N(CH_3)_3^+$, $-NO_2$, $-SO_3H$, $-COOH$; $-COOR$, halogène

L'orientation est fonction de l'électronégativité des substituants (Figure 10) ; les groupes alkyles augmentent la densité électronique en « ortho » et « para » par effet inducteur, les groupes hydroxyles et amines par un effet mésomère. Les groupes désactivateurs augmentent la densité électronique en « méta » sauf les halogènes qui orientent par effet mésomère en « ortho » et « para ».

Les isomères « para » sont prédominants sur « ortho » en raison de l'encombrement stérique [49].

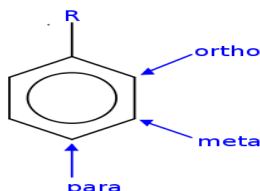


Figure 10 : Positions *ortho*, *méta* et *para*

L'activation du cycle par un substituant activateur comme l'hydroxyle conduit souvent à des dérivés pluri-iodés, ce qui peut modifier les propriétés biologiques et physico-chimique de la molécule. Afin de contrôler la position de marquage, on peut substituer l'un des carbones du cycle aromatique par un métal. Différentes espèces organométalliques ont été utilisées pour ioder une molécule : le bore, l'étain, le germanium ou le silicium. On constitue ainsi un dipôle, le carbone étant plus électronégatif que le métal, cible privilégiée de la réaction d'iodation [49].

Dans notre étude l'électrophile « iode » est trop peu réactif, et ne peut être substitué à l'hydrogène qu'une fois activé par oxydation. L'iode peut exister sous plusieurs degrés d'oxydation (Tableau I).

C'est uniquement dans les états d'oxydation I^0 et I^+ (iode actif) qu'il est susceptible de réagir au cours d'une substitution électrophile. L'étape de marquage fera donc appel à une oxydation de l'iodure. La substitution électrophile se fait par effet inducteur-donneur du groupement OH, car il dispose de deux paires d'électrons susceptibles d'entrer en résonance avec le noyau aromatique et d'en augmenter la densité électronique.

Tableau I : Différents degrés d'oxydation de l'iode.

Degré d'oxydation	Formes moléculaires
I^-	Iodure
I^0	iode élémentaire
I^+	Indonium
I^{5+}	IO_3^- (iodate)
I^{7+}	IO_4^- (periodate)

I-7-4-4-Les agents d'iodation

Différents agents iodés peuvent être utilisés pour introduire l'atome d'iode radioactif sur son substrat :

- l'iodure de sodium (Na^*I)
- l'iode moléculaire ($*I_2$)
- l'acide hypoiodeux ($*IOH$)
- le chlorure d'iode (ICl)
- les composés organiques N-iodés (Iodogen[®]).

Dans notre étude l'agent d'iodation utilisé est l'iodure de sodium : C'est le composé le plus simple de l'iode et la seule forme commercialisée. Il est utilisé dans les réactions de substitutions aromatiques nucléophiles des halogénures, dans les réactions de substitution aliphatique nucléophile des halogénures, dans les réactions de substitution des sels de diazonium.

I-7-4-5-Les agents d'oxydation :

Nous avons utilisés trois agents d'oxydation durant notre étude :

I-7-4-5-1- La chloramine-T :

N-chlorotoluène sulphonamide de sodium (CAT), est un agent d'oxydation doux à température ambiante dans des conditions neutres ou basiques [48], employé pour le radiomarquage spécifique des peptides et des protéines (Figure 11). En solution aqueuse, la chloramine T libère lentement l'acide hypochloreux ($HOCl$) qui oxyde l'iodure pour former un ion d'iodonium (H_2OI^+). La réaction d'oxydation est contrôlée par adjonction d'un réducteur généralement du bisulfite de sodium ($Na_2S_2O_5$) qui va inactiver l'agent d'oxydation et réduire I^+ non substitué en I^- .

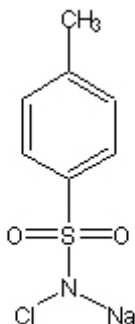
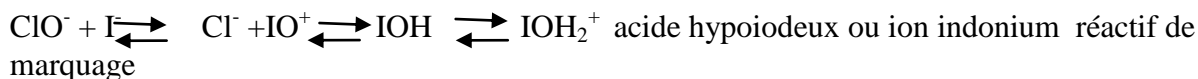


Figure 11 : Structure de la chloramine T

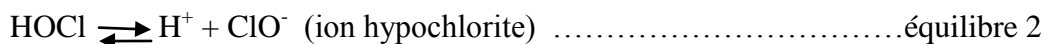
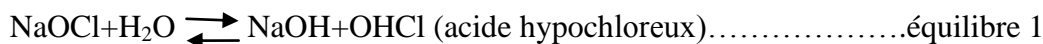
La chloramine T en solution aqueuse libère HOCl (acide hypochloreux) qui va oxyder l'iodure en ion indonium H_2OI^+ selon les réactions :



I-7-4-5-2-Hypochlorite de sodium (Eau de javel) :

L'hypochlorite de sodium est un produit hautement réactif et se transforme rapidement pendant et après son utilisation. La réaction principale au cours de son utilisation est une oxydation qui entraîne à terme sa décomposition (à environ 99 %) en chlorure de sodium, oxygène et eau.

Les équilibres de dissociation de l'Eau de javel suivants sont en jeu simultanément :



C'est le niveau de pH qui favorise soit l'équilibre 1 soit l'équilibre 2. Plus le pH et la température sont élevés et plus la réaction tendra vers la génération d'ions hypochlorite.

Comme pour la chloramine T l'ion hypochlorite réagit de la même façon avec l'iodure pour former l'ion indonium.

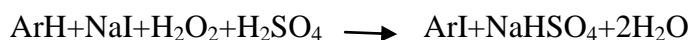
Le degré chlorométrique (°chl.) de Guy Lussac

Il donne le pouvoir oxydant d'un litre d'eau de Javel, à 20°C, exprimé en litres de dichlore gazeux sous 1 bar (101,3 kPa) et à 0°C. Il correspond au nombre de litres de chlore gazeux qu'un litre de solution est capable de dégager en présence d'un acide dans des conditions normales de température et de pression. Un litre d'eau de Javel de dilution courante, 12°chl, peut, en milieu acide, libérer douze litres de dichlore gazeux ou, en milieu basique, possède sensiblement la même action décolorante que douze litres de dichlore.

I-7-4-5-3-Peroxyde d'hydrogène ou eau oxygénée :

Le peroxyde d'oxygène est un oxydant « vert » à fort potentiel oxydant, le seul déchet produit est l'eau [51]. C'est un liquide incolore, transparent, légèrement visqueux, miscible à l'eau en toutes proportions et toujours vendu sous forme de solution aqueuse plus ou moins concentrée, de 35 à 70 % en volume. Ses principaux intérêts résident dans son pouvoir oxydant et son efficacité dans un large domaine de pH.

Les réactions mises en jeu (selon le protocole choisi pour la réaction d'iodation) sont les suivantes :



* : ArH désigne les composés aromatiques.

I-8-Technique utilisées pour la caractérisation:

I-8-1-Méthodes et techniques de purification

I-8-1-1-Méthodes et techniques chromatographiques

La chromatographie est aujourd'hui, une méthode analytique largement utilisée pour la séparation, l'identification et éventuellement le dosage des constituants chimiques dans des mélanges complexes. Les facteurs qui interviennent dans le partage des molécules à séparer entre la phase stationnaire et la phase mobile sont : la solubilité dans un solvant liquide, la taille (la forme), la polarité, la charge électrique, la présence de groupements d'atomes formant des sites particuliers. Les différents types de chromatographie résultent du fait que l'on a privilégié l'effet de l'un de ces facteurs par rapport à l'autre, mais il faut noter que l'exclusivité d'un mécanisme n'est jamais totale au cours d'une séparation chromatographique. Il existe différentes sortes de chromatographies parmi lesquelles on peut citer :

- **La chromatographie de partage** : C'est une chromatographie liquide-liquide. Cette chromatographie est ainsi dénommée car elle est basée sur le partage du soluté dans les deux phases liquides.

- **La chromatographie d'exclusion** : elle est encore appelée chromatographie d'exclusion-diffusion, tamisage moléculaire, gel filtration, perméation de gel. La phase stationnaire est un solide poreux : les grosses particules sont exclues de la phase fixe, en revanche les petites particules incluses diffusent plus lentement dans les pores du gel.

- **La chromatographie d'adsorption** : c'est une chromatographie liquide-solide. La phase stationnaire est un adsorbant solide polaire.

- **La chromatographie d'adsorption en phase inverse** : c'est une chromatographie liquide-solide dans laquelle la phase stationnaire est apolaire.

- **La chromatographie sur échangeurs d'ions** : ou la phase stationnaire est constituée par une résine porteuse de groupements ionisés négativement ou positivement, exerçant des interactions de type électrostatique avec les solutés ioniques du milieu.

- **La chromatographie d'affinité** : ou la phase stationnaire est un support macromoléculaire chimiquement inerte, sur lequel est greffé un effecteur qui présente une affinité biologique (bio-affinité) pour un soluté de l'échantillon à analyser (affinité enzyme-substrat, ligand-récepteur, antigène-anticorps).

En résumé, les différents principes de chromatographie résultent du fait que l'on a privilégié l'effet de l'un des facteurs suivants, afin de séparer des composés constituant un mélange:

- la solubilité dans un solvant liquide dans la chromatographie de partage
- la taille, la forme dans la chromatographie d'exclusion
- la polarité dans la chromatographie d'adsorption, et d'adsorption en phase inverse
- la charge électrique dans la chromatographie par échange d'ions
- la présence de groupements d'atomes formant des sites particuliers dans la chromatographie d'affinité

I-8-1-1-1-La chromatographie sur couche mince :

La Chromatographie sur Couche Mince (CCM) est une technique analytique rapide, simple et peu coûteuse, utilisée au cours de la séparation et de l'identification des métabolites (Figure 12). Elle repose principalement sur le phénomène d'adsorption. Elle s'applique aux molécules pures, aux extraits (mélange complexes de métabolites) et aux échantillons biologiques. Elle permet d'avoir une idée globale des métabolites présents dans un extrait ou une fraction, permet un contrôle aisé et rapide de la pureté d'un composé lorsque les conditions opératoires sont bien déterminées. Elle permet également de suivre la progression d'une réaction étant donné qu'elle indique le nombre de composants dans un mélange réactionnel. La mise en œuvre d'une CCM nécessite plusieurs matériels tel que :

- **Une cuve chromatographique** : c'est un récipient en verre, de forme variable (selon les manipulations à effectuer) fermé par un couvercle maintenu étanche.

- **Une phase stationnaire** : c'est une couche d'absorbant étalé uniformément sur un support en aluminium ou en verre de dimensions variables (généralement 20 x 20 cm, 10 x 10cm ou 5 x 10cm) avec une épaisseur comprise entre 0.5 et 2 mm. L'absorbant que nous avons utilisé est le gel de silice (Merck) qui permet la séparation de substances lipophiles et hydrophiles d'un mélange.

- **La phase mobile** : c'est l'éluant, il est composé d'un solvant unique ou d'un mélange de solvant qui migre lentement le long de la plaque en entraînant les composants de l'échantillon déposé.

- **Les échantillons** : ils sont le plus souvent solubilisés dans un solvant volatil qui n'est pas forcément le même que l'éluant. Les échantillons à analyser sont appliqués en petits spots sous forme de points ou de bandes sur l'absorbant. La plaque est déposée verticalement dans la phase mobile constituée, comme on a préalablement indiqué, par un ou plusieurs solvants organiques. Pour une bonne élution, la cuve contenant le solvant d'élution doit être saturée pour cela un papier filtre Whatman recouvre les parois de la cuve. Une fois le développement du chromatogramme effectué, la plaque est séchée à température ambiante.

puis examinée à l'UV (longueurs d'ondes $\lambda = 254$ nm et 365 nm). Si nécessaire, les taches du chromatogramme sont révélées par pulvérisation de réactifs appropriés.

On détermine alors, pour chaque constituant, le Rapport frontal (ou *Rate factor*) :

$$R_f = \frac{\text{Distance parcourue par le constituant}}{\text{Distance parcourue par le front de l'éluant}}$$

- Le R_f est caractéristique d'une substance donnée pour un éluant déterminé sur un support «phase stationnaire» donné.
- Le R_f est le même, que le constituant soit pur ou dans un mélange.
- Le R_f ne dépend pas de la concentration du constituant dans le mélange

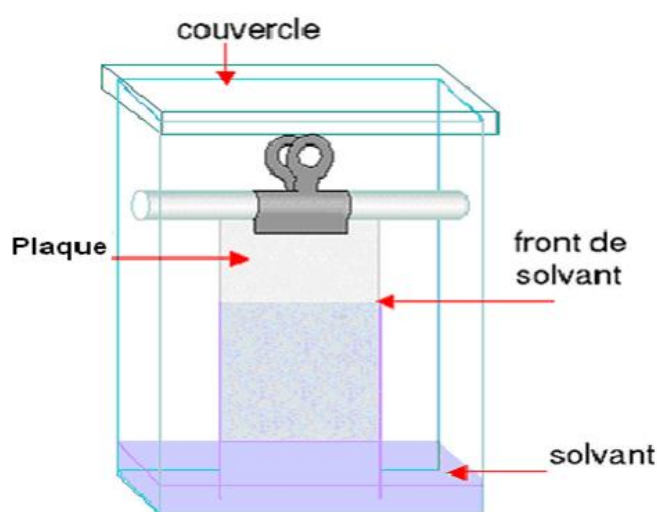


Figure 12: Schéma du développement chromatographique d'une plaque

I-8-1-1-2-Chromatographie liquide haute pression (CLHP)

La chromatographie liquide à haute pression est une technique basée sur les mêmes principes que ceux de la chromatographie classique sur colonne sans en présenter les inconvénients que sont: la lenteur des séparations, l'absence de détecteurs et la quantité considérable d'échantillon nécessaire. C'est un appareillage plus sophistiqué qui permet de mettre en œuvre, selon la nature de la phase stationnaire, aussi bien des phénomènes de partage, qui sont les plus courants, que des phénomènes d'adsorption, d'échanges d'ions ou d'exclusion (Figure 13). La phase stationnaire est une colonne de silice phase inverse C_{18}

La méthode de séparation qu'elle utilise fait appel aux mêmes éléments de base que ceux employés pour la chromatographie classique sur colonne, soit un ou plusieurs solvants et une colonne remplie avec une phase stationnaire. Dans ce cas, la colonne est précédée d'une pré-colonne (phase inverse C_{18} également) qui permet d'éviter les colmatages éventuels occasionnés par l'accumulation de molécules de très grosse taille. Ces colonnes en phase inverse (C_{18}) permettent la séparation des composés polaires, solubles dans l'eau ou dans les mélanges hydro-alcooliques.

La grande différence par rapport à la chromatographie classique réside dans la durée d'élution. Cette vitesse est obtenue par l'application d'une pression élevée grâce à une pompe qui maintient constant le débit de l'éluant. Cette technique se distingue également de la chromatographie classique par l'utilisation d'un détecteur dont le message est enregistré puis exploité par un détecteur relié au système. Il est souvent difficile de trouver rapidement les conditions opératoires qui mèneront à une bonne séparation. Dans ce cas, la phase analytique (CLHP analytique) conduit au choix des conditions expérimentales de la séparation [52].

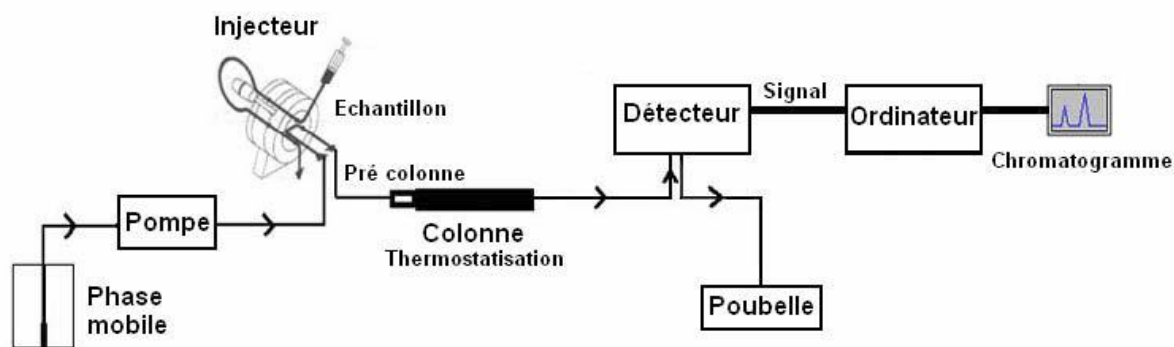


Figure 13 : Schéma de principe d'une chaîne CLHP

I-8-1-2-la recristallisation

C'est une méthode de purification utilisée dans la plus part des cas pour les composés pouvant se présenter sous forme de cristaux. Elle s'utilise même sur de petites quantités. Le principe de cette technique est basé sur la solubilité des mélanges à séparer. En effet, lorsqu'on veut isoler ou purifier un composé présent dans un mélange par cette technique, la première étape consiste à trouver le meilleur solvant de recristallisation.

On appelle meilleur solvant de recristallisation, le solvant dans lequel le produit à cristalliser est peu soluble à froid et très soluble à chaud alors que les impuretés sont solubles à chaud et à froid.

Par chauffage suivi immédiatement de filtration, on élimine une partie des impuretés insolubles à chaud. Le refroidissement permet au produit de cristalliser. La filtration suivante permet d'éliminer le solvant et la partie des impuretés solubles à froid [52].

I-8-2-Les techniques d'identification structurale

L'identification des structures moléculaires organiques se fait généralement par utilisation combinée de plusieurs techniques spectroscopiques, la spectrométrie de masse, la spectrométrie UV et infrarouge, la résonance magnétique nucléaire du proton et du carbone. Ces techniques permettent dans un temps réduit d'avoir des données importantes conduisant à la l'élucidation structurale. Les plus utilisées au cours de notre travail ont été :

I-8-2-1-La Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)

La résonance magnétique nucléaire ou RMN est une technique utilisée pour l'analyse des structures de nombreuses molécules chimiques. Elle sert principalement à la détermination structurale des composés organiques. Elle permet d'obtenir en un temps relativement court des informations qualitatives ou quantitatives sur l'échantillon analysé. Les principaux noyaux étudiés sont le proton ^1H , le carbone ^{13}C , le phosphore ^{31}P , et l'azote ^{15}N . Cette méthode repose essentiellement sur le phénomène de magnétisme. En effet, les noyaux de certains atomes (^1H , ^{13}C , etc...) possèdent un moment magnétique nucléaire, c'est-à-dire qu'ils se comportent comme des aimants microscopiques caractérisés par une grandeur quantique appelée «le spin» [53].

La technique de RMN étudie le comportement des noyaux atomiques en présence d'un champ magnétique externe. Le champ magnétique appliqué aux produits entraîne un dédoublement des niveaux d'énergie du spin nucléaire, de sorte qu'on puisse induire des transitions entre eux, suite à l'absorption d'une radiation électromagnétique adéquate. Les échantillons sont dissous dans un solvant deutéré qui peut être du méthanol, du chloroforme, de la pyridine etc... Ces solvants possèdent des déplacements chimiques spécifiques (Tableau II). Le tube contenant l'échantillon est soumis au champ magnétique permettant l'obtention des spectres utiles à la l'élucidation structurale.

Tableau II : Déplacement chimique (en ppm) des solvants deutérés utilisés

Solvants	$\delta \text{ } ^1\text{H}(\text{ppm})$
Chloroforme- <i>d</i> 1	7.27(1)
Méthanol- <i>d</i> 4	4.85(1) ,3.30(5)
DMSO- <i>d</i> 6	2.49(5)

Différentes techniques peuvent être utilisées :

I-8-2-1-1-RMN monodimensionnelle (RMN – 1D)

- RMN proton (^1H)

Le spectre RMN du proton est une méthode puissante utilisée dans la détermination structurale des composés organiques inconnus. Il fournit de nombreuses informations telles que, les différents types d'hydrogènes présents dans la molécule analysée, les différents types d'hydrogènes présents dans l'environnement électronique, le nombre d'hydrogènes "voisins" d'un hydrogène donné et le déplacement chimique caractéristique de chaque proton. C'est la technique la plus utilisée car le proton a un facteur gyromagnétique élevé et une abondance isotopique proche de 100%, ce qui donne à la technique une bonne sensibilité.

En RMN du ^1H , trois informations sont importantes [54] :

- Le déplacement chimique (δ) :

C'est une fréquence exprimable en Hertz (Hz), qui est en pratique toujours présentée sous la forme d'une échelle de ppm qui a l'avantage d'être la même quelle que soit la puissance de l'appareil.

Elle donne une indication sur la nature des groupements chimiques présents.

➤ L'intégration :

L'aire sous la courbe de chaque pic est proportionnelle au nombre d'atomes d'hydrogène équivalents concernés.

➤ Le couplage :

Chaque proton est couplé avec ses voisins immédiats non équivalents dans la molécule. Ceci se traduit par un changement de forme des signaux observés. Le signal d'un proton indique le nombre de protons avec lesquels il est couplé ($n+1$ raies pour n voisins) et peut même donner des renseignements d'ordre structural, *via* l'écartement de ces raies, mesuré en Hz et appelé constante de couplage (J).

• RMN carbone (^{13}C):

Dans cette expérience, chaque atome de carbone qui est dans un environnement unique provoque un pic signal distinct sur un spectre. Généralement, cette technique permet de mettre en évidence tous les carbones de la molécule. L'analyse se base les déplacements chimiques observés en fonction de l'environnement de chacun des atomes de carbone. Cette expérience permet la mise en évidence des carbones primaires (CH_3), secondaires (CH_2), tertiaire (CH) et dans une moindre mesure les carbones quaternaires.

I-8-2-1-2-RMN bidimensionnelles (RMN – 2D)

Les expériences de RMN-2D reposent sur une succession de trois intervalles de temps, le temps de préparation, le temps d'évolution et le temps de détection. Dans certaines autres expériences, il peut s'ajouter une autre période avant la détection, c'est le temps de mixage [55].

I-8-3-La spectroscopie Ultra-violet (UV)

Les techniques de spectroscopie UV visible sont des méthodes simples et rapides qui fournissent des informations sur la nature chimique, les propriétés physico structurales, et les caractéristiques optiques des composés. C'est une méthode quantitative et qualitative de grande utilité pour les analyses chimiques. Dans les composés, chaque fonction absorbe à une longueur d'onde bien déterminée. Ceci permet de caractériser les molécules. La mesure de l'absorption UV permet également de connaître ou de déterminer la composition chimique d'un mélange, par comparaison avec des témoins.

La spectroscopie est l'étude du spectre électromagnétique d'un phénomène visuellement détectable (d'où le suffixe -scopie). Depuis, l'œil a été remplacé par différents types de détecteurs photoélectriques et il convient alors de parler de spectrophotométrie.

La spectroscopie UV-Visible qui repose, pour les molécules organiques, sur des interactions entre le rayonnement électromagnétique et les électrons des orbitales moléculaires, et le plus souvent des électrons π et des paires libres. On parle alors de « chromophores ».

La spectroscopie UV est basée sur l'absorption du rayonnement électromagnétique et les spectres UV-Vis représentent en général l'absorbance en fonction de la longueur d'onde (A vs λ).

L'absorbance A , dans certaines conditions, est fonction de la concentration, du trajet optique et du coefficient d'extinction molaire suivant la loi de Beer-Lambert :

$$A = \epsilon \cdot L \cdot C$$

où ϵ est le coefficient d'extinction molaire à une longueur d'onde donnée (en $\text{cm}^{-1} \cdot \text{M}^{-1}$); l est le trajet optique (en cm) et C est la concentration de la solution étudiée [56,57].

De nombreux paramètres peuvent provoquer la déviation par rapport à cette loi. Elle n'est plus vérifiée quand la concentration devient trop élevée, quand une réaction modifie la composition ou le pH ou quand il reste des impuretés.

I-8-4-La spectroscopie de fluorescence

La fluorescence est le résultat d'un phénomène triphasique qui s'opère sur certaines molécules qui sont généralement polyaromatiques ou hétérocycliques appelés fluorophores ou sondes fluorescentes.

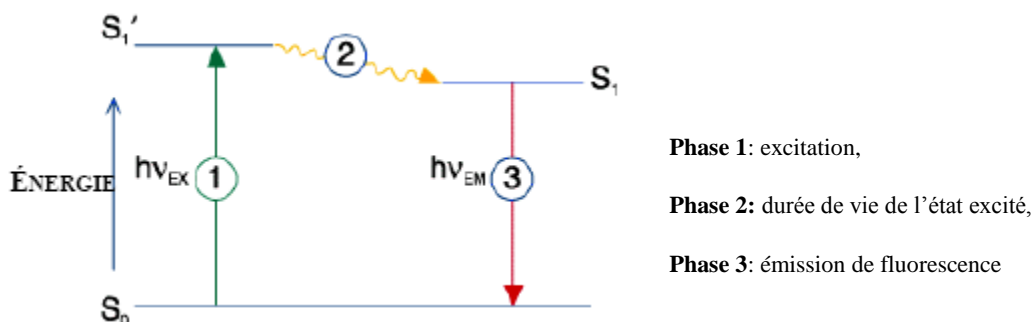


Figure 14 : Diagramme de Jablonski illustrant le processus de fluorescence

Une molécule fluorescente (fluorophore) possède la propriété d'absorber de l'énergie lumineuse (lumière d'excitation) et de la restituer rapidement sous forme de lumière fluorescente (lumière d'émission). Une fois l'énergie du photon absorbée, la molécule se trouve alors dans un état électroniquement excité, généralement un état singulet, que l'on note S_1' (Figure 14). Le retour à l'état fondamental peut alors se faire de différentes manières. L'une d'elles est l'émission d'un photon, c'est le phénomène de fluorescence. La longueur d'onde ré-émise par la molécule excitée peut être de même longueur d'onde (fluorescence de résonance) ou de longueur d'onde plus grande. Ce dernier cas se justifie par le fait que, dans les milieux liquides en particulier, la molécule retourne à l'état fondamental à partir du niveau de vibration le plus bas de l'état excité (règle de Kasha). Cette différence est appelée déplacement de Stokes (Figure15) et se calcule selon la formule :

$$\Delta \text{ Stokes} = \bar{\nu}_{ex} - \bar{\nu}_{em}, \quad \bar{\nu} = 1/\lambda$$

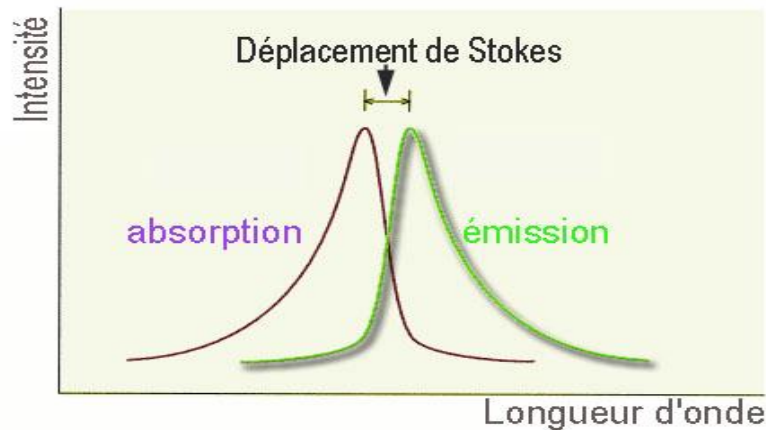


Figure 15 : Déplacement de Stokes

Ce déplacement du spectre d'émission vers des longueurs d'onde plus élevées donc de moindre énergie, décrit par la loi de Stokes est essentiel pour la séparation et la détection de la lumière de fluorescence, signal spécifique délivré par le fluorophore.

Contrairement à la spectrophotométrie, la détection ne se fait pas par rapport à une référence, mais le photomultiplicateur (PM) opère un comptage de tous les photons émis, d'où une plus grande sensibilité de la technique. La limite de détection dans un spectrofluorimètre atteint 10^{-9} à 10^{-12} mol/L, et peut descendre jusqu'à 10^{-17} mol/L en microscopie à fluorescence.

Cependant, du fait qu'on travaille sans référence, la possibilité d'observer des artéfacts est plus grande : en effet, le photomultiplicateur prend en compte tous les photons émis, notamment ceux pouvant provenir d'impuretés présentes dans le milieu d'analyse ou sur les parois de la cuve, ainsi que le signal correspondant à la diffusion par l'échantillon de la lumière excitatrice.

Par ailleurs, pour des solutions suffisamment diluées, l'intensité de fluorescence est proportionnelle à la concentration. L'écart par rapport à la linéarité augmente avec la concentration et il est possible d'observer pour de fortes concentrations une diminution de l'intensité de fluorescence due à des effets de filtres internes.

Il existe un grand choix de fluorochromes, chacun pouvant être caractérisé par ses spectres d'excitation et d'émission. Les différentes caractéristiques des fluorophores sont :

- **Longueurs d'onde** : celles qui correspondent aux pics des spectres d'excitation et d'émission
- **Coefficient d'extinction (ou absorption molaire)** : il relie la quantité de lumière absorbée, à une longueur d'onde donnée, à la concentration du fluorophore en solution ($M^{-1}.cm^{-1}$)
- **Rendement quantique** : efficacité relative de la fluorescence comparée aux autres voies de désexcitation (= nombre de photons émis / nombre de photons absorbés)
- **Durée de vie à l'état excité** : c'est la durée caractéristique pendant laquelle la

molécule reste à l'état excité avant de retourner à son état fondamental (ordre de la picoseconde). Cette durée est assimilable à la demi-vie de l'état excité.

- **Photoblanchiment (photobleaching)** : lorsque la molécule est à l'état excité, il existe une certaine probabilité pour qu'elle participe à des réactions chimiques (on parle alors de réactions photochimiques), en particulier avec l'oxygène sous forme de radicaux libres. Le fluorochrome perd alors ses propriétés de fluorescence. Autrement dit, quand on excite une solution de molécules fluorescentes, une certaine proportion d'entre elles est détruite à chaque instant et par conséquent l'intensité de fluorescence décroît au cours du temps. Ce phénomène peut être gênant, notamment en microscopie de fluorescence, mais il peut également être mis à profit pour mesurer la mobilité moléculaire par la méthode de redistribution de fluorescence après photoblanchiment (FRAP) ou de FLIP (Perte de fluorescence au cours d'un photoblanchiment local).

Les principales applications de la fluorescence sont :

- ❖ La détection et le dosage d'espèces fluorescentes.
- ❖ La détection et le dosage d'espèces à l'aide de sondes fluorescentes (puces à ADN, balises moléculaires, dosage de protéines, d'anticorps, etc.).
- ❖ La mesure des distances entre espèces dans les cas de transferts de fluorescence.
- ❖ L'étude de l'influence des paramètres du milieu sur la fluorescence moléculaire.
- ❖ L'étude des modifications structurales ou chimiques d'une molécule fluorescente.
- ❖ Et de nombreuses applications pratiques (lampes fluorescentes, marquage de sécurité de documents, criminologie, décoration, spectacle, etc.) [58].

MATERIEL ET METHODES

II-Matériel et méthodes

II-1-Matériel

II-1-1-Réactifs et produits chimiques

Tous les solvants et réactifs sont obtenus auprès de SIGMA ou de FLUKA et sont de pureté chimique adaptée pour une utilisation en CLHP et CCM :

Acide chlorhydrique.....	FLUKA
Acide sulfurique.....	FLUKA
Acide p-toluènesulfonique monohydrate.....	SIGMA
Acétonitrile.....	SIGMA
Méthanol.....	SIGMA
Dichlorométhane.....	SIGMA
Résorcinol.....	SIGMA
Ethyl acétoacétate.....	SIGMA
Ether éthylique.....	SIGMA
Chloramine T (CAT).....	SIGMA
Hypochlorite de sodium 6%.....	SIGMA
Peroxyde d'hydrogène 30V.....	SIGMA
Iode bisublimé (I ₂).....	SIGMA
NaI ¹²⁵	MDS, NORDION, Belgique
Thiosulfate de sodium.....	SIGMA

Les dérivés de la coumarine :

Composé A : 2-oxo-2H-chromene-3-cyano

Composé B : 2-oxo-2H-chromene-3-carboxy

Composé C : 7-hydroxy-4-methyl-2-2H-chromene

Composé D: 7-hydroxy-2-oxo-2H-chromene-3-cyano

Composé E : 7-hydroxy-2-oxo-2H-chromene-3-carboxy

Les cinq composés ont été aimablement fournis par l'équipe du laboratoire de chimie organique appliquée (LCOA) de la faculté de chimie de l'USTHB.

II-1-2-Instruments pour les études analytiques

Point de fusion (mp) :

Les points de fusion des solides sont mesurés sur un appareil STUART SCIENTIFIC SMP3 dans des tubes capillaires ouverts et ne sont pas corrigés.

Spectrophotomètre UV :

Le spectrophotomètre utilisé est un appareil CARY 50 SCAN U-V visible de VARIAN

Spectrophotométrie de fluorescence :

Le fluorimètre employé est un CARY ECLIPSE de VARIAN.

Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP) :

Les séparations CLHP sont réalisées sur deux systèmes :

- 1- CLHP PERKIN ELMER Série 200 muni d'un détecteur UV-visible à barrette de diodes (Perkin Elmer Ct, USA) et d'un injecteur rhéodyne 7725i. La phase stationnaire du système HPLC est matérialisée par une colonne en acier 150x4.6 mm renfermant un gel de silice sous forme de microsphères (de 5 µm de diamètre) greffées par une chaîne C18. La colonne était à la température du laboratoire.
- 2- CLHP HP HEMLETT PACKARD Série 1100 muni d'un détecteur UV-visible à barrette diode et d'une colonne C18.

Les solvants utilisés sont de qualité CLHP.

La chromatographie sur couche mince : les plaques utilisées pour la détection des molécules iodées après synthèse sont des plaques aluminium « TLC Silicagel gel 60 F₂₅₄ »

(MERCK) .Le système d'élution est composé de dichlorométhane/méthanol 11 :1.Les CCM sont analysées en lumière visible et sous UV (254 et 356 nm).

Les plaques utilisées pour les contrôles de puretés radiochimiques sont des plaques ITLC-SG (Gelman Sciences Inc) .

Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) :

RMN du proton 1H :

Les spectres RMN du proton 1H sont enregistrés sur des appareils BRUCKER 300 ou 400 MHz. Les valeurs des déplacements chimiques sont exprimées en ppm (δ) relativement au signal résiduel du solvant utilisé comme référence interne le tétraméthylsilane (TMS). Les spectres sont enregistrés dans le DMSO deutéré.

Les constantes de couplages (J) sont données en Hertz (Hz) par ordre croissant. Les abréviations suivantes sont utilisées pour décrire la multiplicité des signaux : s (singulet), d (doublet), t (triplet).

Mesure de la radioactivité :

Différents instruments de mesure de la radioactivité ont été utilisés. La mesure des échantillons liquides et solides est réalisée soit par un activimètre ISOMED 1010 (pour les activités supérieures à 37 KBq), soit par un passeur d'échantillon, compteur gamma Perkin Elmer 2470 (pour les activités inférieures à 37 KBq) assisté par ordinateur et piloté par un logiciel d'exploitation.

Four à micro-ondes domestique : modifié type SAMSUNG DIGITAL TDD system 2450MHz 800W.

Lampe UV.....	CAMAG UV-BETRACHTER
Balance	OHAUS
Etuve	THELCO
Vortex	LABINCO
Centrifugeuse	BECKMAN
Plaque chauffante avec agitation	HEIDOLPH
Boîte à gants en dépression avec aspiration d'air dans un filtre à charbon.	
Thermomètre infrarouge portable avec pointeur laser.....	TESTO 826-T4

II-2-Méthodes

La première partie de ce travail est une étude théorique basée sur l'utilisation de différents logiciels permettant d'établir la répartition des charges, les déplacements chimique du proton en RMN et le calcul des LogP des cinq dérivés de la coumarine ainsi que de leurs homologues iodés. L'interprétation des résultats permettra d'avoir une vue d'ensemble sur les sites d'iodation des cinq dérivés iodés.

La seconde partie est la partie expérimentale, un protocole d'iodation sera appliqué sur les cinq dérivés de la coumarine, ce protocole est inspiré de divers publications scientifiques traitant de l'iodation de molécules aromatiques activées. Les réactions d'iodation seront suivies par CCM. Les produits de réactions seront analysés par RMN du proton, les résultats de cette analyse permettront de sélectionner le ou les composés ayant le mieux réagit à l'iodation, et ils permettront de comparer les résultats de l'étude théorique avec ceux de l'expérimentation, le ou les composés sélectionnées seront synthétisées selon les préceptes de « la chimie verte ». Des réactions d'iodation seront alors réalisées avec différents oxydants, et les produits de réactions seront étudiés par CLHP.

Enfin, un protocole d'iodation adapté à l'utilisation de l'iode 125 (radioactif) sera validé d'abord à froid (avec la molécule de NaI froide) puis sera appliqué sur la ou les molécules sélectionnées. Un contrôle de qualité sera effectué sur le ou les composés marqués.

II-2-1- Etude théorique par logiciel

La prédiction des sites d'iodation par répartition des charges a été réalisée avec le logiciel GAUSSIAN par la méthode semi empirique du modèle AM1 (Austin Model 1) et du modèle PM3 (Parametrised Model 3) qui est une variante du modèle AM1. Ce modèle est adapté à la détermination des répartitions de charges [59]. Les méthodes semi-empiriques permettent des calculs rapides et sont de précision suffisante pour la prévision des propriétés physico-chimiques.

GAUSSIAN03 permet de connaître la répartition des charges sur les dérivés de la coumarine ainsi que sur les dérivés iodés, les sites potentiels d'iodation seront alors déterminés.

Les déplacements chimiques du proton des cinq dérivés coumariniques et de leurs homologues iodés sont évalués avec le logiciel ChemNMR.

Les valeurs de LogP (qui détermine le caractère lipophile ou hydrophobe d'un composé) des dérivés coumariniques et de leurs homologues iodés sont calculées par le logiciel ChemSketch. Le caractère lipophile des composés étudiés est à comparer aux résultats des analyses CCM et CLHP.

II-2-2-Etude expérimentale

II-2-2-1-Etude UV et fluorescence des composé A-E

Les composés A à E ont été analysés en spectrométrie U-V-visible et de fluorescence dans le méthanol à une concentration de 8×10^{-5} mole/L.

II-2-2-2-Synthèses et caractérisation des dérivés iodés A-E

Les composés A à E ont été iodés selon le protocole suivant :

Toutes les réactions d'iodation ont été réalisées à pH~ neutre car à ce pH l'iode s'oxyde facilement en cation indonium I^+ et le cycle benzénique est alors ionisé en anion par la perte d'un proton H^+ [60].

Dans un ballon Bicol de 100ml, 10mmol du composé (A-E) ainsi que le NaI (0.15g, 10mmol) sont dissous à chaud dans 10ml d'acétonitrile/MeOH (V/V), le ballon est placé dans un bain-marie à 60°C sous reflux et sous agitation, 5ml de chloramine T (0.227g, 10mmol) sont ajoutés goutte à goutte pendant 20 minutes. On note un changement de couleur du mélange réactionnel qui vire du jaune au marron foncé lors de l'ajout de l'oxydant, c'est le signe de la production de I_2 .

L'évolution de la réaction est suivie pendant deux heures par CCM, et arrêtée avec 3ml de $Na_2S_2O_3$ à 10% afin de réduire l'iode qui n'a pas réagi, le mélange réactionnel est centrifugé après ajout de quelques gouttes de HCl 10% afin de précipiter le produit formé, le culot est rincé plusieurs fois jusqu'à pH neutre puis séché.

Les préparations d'une solution oxydante de chloramine T et d'une solution réductrice de thiosulphate de sodium en solution aqueuse, sont extemporanées.

Les cinq réactions de synthèses ont été suivies par CCM, le système d'élution est composé de Dichlorométhane : Méthanol (11:1), les taches sont révélées par lampe UV. Les produits des réactions seront analysés par RMN du proton.

Selon les résultats (CCM et RMN) le composé ayant le mieux réagi à la réaction d'iodation est le composé C (les explications sont données dans la partie résultats et discussions) il fera donc l'objet d'une nouvelle synthèse, réalisée dans le respect des principes de la chimie durable ou « chimie verte », et d'une optimisation de la réaction d'iodation.

II-2-2-3-Synthèse « verte » du composé C

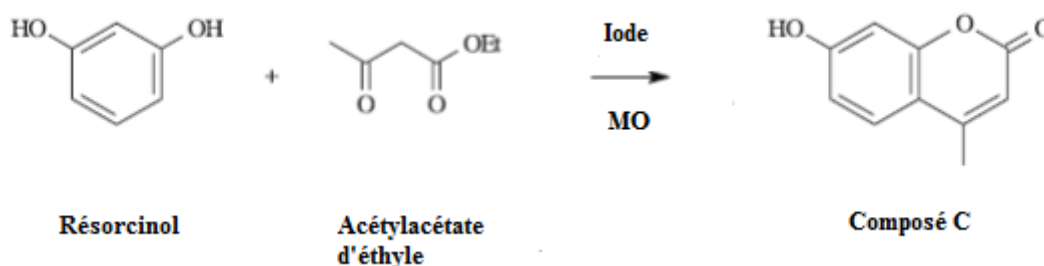
De nombreux catalyseurs acides ont été utilisés dans la réaction de « Von Pechmann » [61] pour la synthèse de dérivés coumariniques, comme l'acide sulfurique [62-65] acide trifluoroacétique [66], pentachlorure de phosphore [67,68] trichlorure d'aluminium [69], zinc iodide [70], ainsi que des métaux onéreux comme les halogénures d'indium [71] et de palladium [72]. Ces catalyseurs étaient utilisés en excès, par exemple pour l'acide sulfurique les proportions étaient de dix à douze équivalents. Tous les catalyseurs utilisés sont nocifs, et ne sont pas très efficace en termes de temps et de rendement. Dans certains cas, la synthèse durait des jours et les rendements faibles alors que les catalyseurs étaient utilisés en excès. Ces inconvénients requièrent la recherche de méthode pratique, plus sûre et plus efficace.

Récemment, l'iode a été utilisé comme un acide de Lewis mou et comme catalyseur dans différentes réactions de transformations organiques [73-76] à cause de sa réactivité unique dans les milieux aqueux et organiques et de sa stabilité. Cet agent électrophile a été utilisé afin de surmonter les inconvénients de la condensation de Von Pechmann.

Nous rapportons ici trois procédures efficaces et pratiques pour la synthèse du composé C en l'absence de solvant, avec catalyseurs et sous irradiations micro-onde :

- un mélange de résorcinol pulvérisé (1.1g, 1mmol), d'acétylacétate d'éthyle (1.3g, 1mmol) et d'iode bisublimé (0.025g) est homogénéisé dans 5ml d'éther éthylique et placé dans un ballon. Après évaporation de l'éther éthylique à l'air libre, la réaction a lieu sous irradiations micro-ondes (300W) pendant 1.5 minutes (80-85°C) puis pendant 1 minute (300W, 100-105°C). Le mélange réactionnel est laissé à température ambiante, 1.2ml d'une solution de sodium thiosulfate à 6% est ajouté, le tout est agité pendant 10 à 15 minutes [77].

Le précipité qui se forme est alors séparé, lavé avec de l'eau glacée et recristallisé dans de l'éthanol.



- un mélange de résorcinol pulvérisé (1.1g, 1mmol), d'acétylacétate d'éthyle (1.3g, 1mmol) et d'acide p-toluènesulfonique (0.15g) est homogénéisé dans 2ml d'éther éthylique, et placé dans un ballon. Après évaporation de l'éther éthylique à l'air libre, la réaction a lieu sous irradiations micro-ondes (300W) pendant 2 minutes (80-85°C) puis pendant 1 minute (300W, 100-105°C). Le mélange réactionnel laissé à température ambiante se solidifie, il est alors dissous dans de l'éthanol. De l'eau glacée est ajoutée, un précipité se forme.
- un mélange de résorcinol pulvérisé (1.1g, 1mmol), d'acétylacétate d'éthyle (1.3g, 1mmol) et 0.1g de silice imprégnée d'acide sulfurique est homogénéisé dans 2ml d'éther éthylique, et placé dans un ballon. Après évaporation de l'éther éthylique à l'air libre, la réaction a lieu sous irradiations micro-ondes (300W) pendant 2 minutes (80-85°C) puis pendant 1 minute (300W, 100-105°C). Le mélange réactionnel laissé à température ambiante, puis traité à l'éthanol chaud, il est enfin filtré et précipité à l'eau glacée.

Toutes les réactions sont contrôlées par CCM. Le point de fusion du composé C est mesuré ainsi que le rendement de la réaction pour chaque procédé. Le composé C obtenu avec le rendement le plus élevé sera utilisé pour les manipulations suivantes.

II-2-2-4-Détermination des paramètres de la réaction d'iodation

Nous avons cherché à optimiser la réaction en fonction de la nature, de la quantité de l'oxydant et du temps de réaction, ainsi que de la proportion de l'agent d'iodation.

II-2-2-4-1-Etude de l'effet de l'agent oxydant et du temps de réaction

Nous avons étudié l'effet d'un excès en chloramine T ainsi que l'effet d'autres oxydants : l'hypochlorite de sodium, et le peroxyde d'hydrogène, l'agent d'iodation est présent à la même concentration soit 1mmol. On obtient trois produits au cours de la réaction d'iodation suivant que le composé est mono-iodé, di-iodé ou non iodé.

- Le même protocole d'iodation est appliqué au composé C avec un léger excès en chloramine T (0.4g, 1.76 mmol au lieu de 0.3g, 1mmol) pendant un temps de réaction de 30, 60,90 et 120 minutes.
- Une réaction d'iodation est réalisée en présence de 2ml d'hypochlorite de sodium 13° (soit 4.12% en chlore actif) comme agent oxydant sont utilisés pendant un temps de réaction de 30, 60,90 et 120 minutes.
- Une autre réaction d'iodation est réalisée en présence de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), le protocole est alors adapté car la présence d'un acide fort est requise afin d'initier la réaction d'oxydation [78-79]:

Dans un ballon Bicol de 100ml, le composé C (1.05mmol) et le NaI (0.15g,1mmol) sont dissous à chaud dans 10ml d'acétonitrile/MeOH (V/V) , le ballon surmonté d'un réfrigérant à reflux, est placé dans un Bain-marie à 60°C et sous agitation, 0.62ml de H₂O₂(1.55mmol) sont ajoutés goutte à goutte pendant 20 minutes .Le ballon est alors placé dans bain de glace afin d'ajouter goutte à goutte 0.077ml de H₂SO₄ (2.8mmol) ,la réaction se poursuit à 60°C sous reflux et agitation. Le temps de réaction est de 30, 60,90 et 120 minutes.

Les réactions sont suivies par CCM.

Afin de mettre en évidence le rôle de l'acide (H₂SO₄) dans la réaction d'iodation, on a procédé à la même réaction mais sans la présence de l'acide.

Les produits des réactions seront analysés en CLHP dans les conditions suivantes :

- **Mode d'élution** : Isocratique (composition du mélange identique pendant toute l'analyse)
- **Phase mobile** : Acétonitrile/Eau (30/70)
- **Longueur d'onde** : $\lambda=254\text{nm}$
- **Débit** : 1mL/mn
- **Volume injecté** : 10 μl

II-2-2-4-2- Etude de l'effet du rapport molaire composé C/agent d'iодation

Une réaction d'iодation est réalisée avec un excès de NaI : 2mmol, les autres éléments de la réaction sont présents en quantité équimolaire (1mmol de C et de chloramine T)

Les réactions sont suivies par CCM, et le produit final est analysé par RMN du proton.

II-2-2-5-Marquage du composé C à froid

Le protocole du marquage radioactif doit être compatible avec les contraintes qu'impose la manipulation de radioisotopes :

- Le temps de chauffage doit être réduit au maximum
- La radioiodation est d'autant plus efficace que le volume de la réaction est faible, en général on travaille dans un volume inférieur à 100 µl et au maximum de 2 ml [80].
- Le nombre de mole d'iode contenu dans un volume d'iодure de sodium (NaI^{125}) doit être connu afin de l'appliquer dans le protocole de radioiodation « à froid », le radiomarquage se fera avec 0.5mCi de NaI^{125} soit 2.3×10^{-10} mole d'iode (voir détails des calculs dans l'annexe 4).
- Toutes les étapes de la réaction doivent être ajustées afin de réduire le plus possible le temps d'exposition aux rayonnements.

Afin de savoir si le composé C marqué à l'iode 125 est mono ou di-iодé dans les conditions de marquage « chaud », une réaction d'iодation « à froid » [81-82] a été effectuée comme suit :

Dans un tube en verre, 20µl d'une solution de C à 2×10^{-6} mole dissous dans l'acétonitrile/méthanol (v/v) ainsi que 10µl d'une solution de NaI à 2×10^{-10} et 1ml d'une solution de chloramine T à 10^{-5} mole fraîchement préparée, sont incubées 3 minutes à 100°C , puis 20 minutes à 60°C. Une coloration jaune apparaît dès le début de la réaction.

La réaction d'oxydation est arrêtée par l'ajout de 250µl de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (10%), puis le mélange réactionnel est acidifié avec du HCl à 0.1N, une précipitation spontanée se produit, le culot est récupéré après centrifugation (3000 T/Min pendant 10 minutes) et lavé avec de HCl à 0.1N afin d'éliminer toutes traces d'iode n'ayant pas réagit.

Un échantillon du culot est dissout dans du DCM pour des tests en CCM.

II-2-2-6-Marquage du composé C à l'iode 125

II-2-2-6-1-Radioprotection

Il va sans dire que la manipulation de substances radioactives comporte des dangers pour la santé. De grandes précautions s'imposent.

Les isotopes n'ont pas tous le même niveau de dangerosité. Une grande partie du danger que représente un isotope dépend du niveau d'énergie des particules qu'il produit. Plus ce niveau est grand, plus les particules sont pénétrantes et plus elles sont susceptibles de causer des dégâts dans l'organisme. Le niveau de protection dépend donc de ce critère.

Un autre facteur très important à considérer est que certains isotopes s'accumulent dans certaines parties de l'organisme et représentent des dangers spécifiques. Ainsi, l'iode se concentre dans la thyroïde alors que le phosphore a tendance à s'accumuler dans les organes génitaux. .(@3)

La manipulation de la radioactivité nécessite de travailler en dépression et en zone surveillée afin de limiter l'irradiation du personnel. L'iode 125 étant très volatil et de demi-vie longue (60jours), les manipulations (marquages, dilutions) s'effectuent dans une boîte à gants en dépression avec aspiration d'air dans un filtre à charbon.

La manipulation de produits radioactifs nécessite une gestion des déchets appropriée et fonction du type de déchets (liquide, solide, gazeux) et de la demi-vie de l'isotope.

Les déchets sont conservés sur une période correspondant à 10 demi-vies du radioélément concerné.

II-2-2-6-2-Protocole de la réaction de marquage du composé C

Le radiomarquage à l'iode du composé C est réalisé par substitution électrophile sur le carbone ayant la densité de charge la plus élevée. L'iode est oxydé par la méthode à la chloramine T et est apporté sous forme d'iodure de sodium NaI^{125} . La chloramine T transforme les ions $^{125}\text{I}^-$ en ions iodonium $^{125}\text{I}^+$. Ces derniers représentent des électrophiles puissants capables par une réaction de substitution électrophile de se fixer sur un site nucléophile (site donneur d'électrons), comme les doubles liaisons ou un noyau aromatique.

Comme spécifié précédemment, la manipulation est réalisée sous hotte plombée et ventilée en raison du risque de production de molécules d'iode radioactives et volatiles au cours des réactions d'oxydation.

Dans un tube en verre, 20 μl d'une solution de C à 2×10^{-6} mole sont marqués par 6 μl d'une solution d'iodure de sodium (NaI^{125} , 0.5mCi) en présence de 100 μl d'une solution de chloramine T à 10^{-5} mole fraîchement préparée, La réaction d'oxydation dure 3 minutes à 100°C, puis 20 minutes à 60°C. Une coloration jaune apparaît dès le début de la réaction.

II-2-2-6-3-Purification

Le mélange réactionnel est acidifié avec 4-5 μl d'une solution de HCl à 0.1N puis centrifuger pendant 10 minutes à 3000 T/mn.

Le surnageant est séparé du culot, ce dernier est rincé avec 100 μl de HCl 0.1N afin d'éliminer l'iode qui n'aurait pas réagi. Le culot est dissous dans 40 μl de DCM/MeOH.

Les deux fractions (culot et surnageant) sont comptées à l'aide d'un activimètre.

Le composé C marqué à l'iode 125 sera évalué par rapport au rendement de marquage, à l'activité spécifique et à la pureté radiochimique.

II-2-7-Contrôle de qualité du composé C marqué l'iode 125:

II-2-2-7-1-Contrôle du rendement de marquage :

Le rendement est calculé selon la formule suivante :

$$\% = \frac{\text{Activité du culot}}{\text{Activité totale}}$$

II-2-2-7-2-Contrôle de la pureté radiochimique (PRC) :

La PRC est déterminée par une méthode simple et rapide qui est la chromatographie instantanée type ITLC-SG (Instant Thin Layer Chromatography –Silice Gel) sur papier en fibre de verre imprégné de gel de silice (Gelman Sciences) utilisé comme phase stationnaire et une phase mobile constituée d'un mélange DCM/MeOH (5 :1). Elle est donc évaluée en mesurant le pourcentage d'impuretés radioactives.

Une goutte du culot reconstitué est déposée sur une ligne de dépôt d'une bande de papier (2x12cm). Après séchage, la bande est placée dans cuve en verre contenant la phase mobile. Une fois la migration terminée, la bande est mise à sécher sous hotte ventilée.

Afin d'éviter la contamination des mains, la bande est placée sur une feuille de papier et recouvertes d'un ruban adhésif, elle est découpée alors en bandelettes de 0.5cm et déposées dans des tubes numérotés en polystyrène de dimension 12x75mm.

La radioactivité est ensuite mesurée pendant 10 secondes avec un compteur gamma.

Le radiochromatogramme est établi en portant le nombre de coups par minute (CPM de chaque tube en fonction du nombre de fraction (nombre de tube).

La PRC du composé C marqué est calculée selon la formule suivante :

$$\text{PRC}\% = \frac{\text{Activité de la molécule marquée}}{\text{Activité de toutes les espèces chimiques présentes}} \times 100$$

Pour être qualifiée de « conforme » la PRC doit être supérieure, si possible, à 90% afin d'éviter une étape de purification supplémentaire difficilement réalisable en routine au laboratoire de préparation des radiopharmaceutiques.

II-2-2-7-3-L'activité spécifique :

L'activité spécifique traduit la proportion des molécules marquées par rapport à l'ensemble des molécules. Elle est exprimée en unité d'activité (μCi) par unité de masse μg ou moles.

$$\text{AS } \mu\text{Ci}/\mu\text{g} = \frac{\text{Taux d'incorporation du radioélément X la radioactivité totale}}{\text{Masse de substance } (\mu\text{g})}$$

RESULTATS ET DISCUSSION

III-Résultats et discussion

III-1-Etude théorique par logiciel

III-1-1-Calcul semi-empirique de la répartition des charges par le logiciel Gaussian03

III-1-1-1-Répartition AM1 des charges des composés A-E

Les schémas de distribution des charges sur les carbones des cinq composés étudiés se trouvent en annexe 5, les Tableaux (III et IV) résument les résultats selon deux méthodes semi empiriques AM1 et PM3 :

Tableau III: Répartition AM1 des charges des composés A-E

Composés	Positions					
	C3	C4	C5	C6	C7	C8
A	-	0.030	-0.062	-0.159	-0.071	-0.150
B	-	0.072	-0.056	-0.159	-0.066	-0.151
C	-0.254	X	-0.043	-0.184	X	-0.246
D	-	0.042	-0.029	-0.185	X	-0.251
E	-	0.083	-0.023	-0.185	X	-0.253

III-1-1-2-Répartition PM3 des charges des composés A-E

Tableau IV: Répartition PM3 des charges des composés A-E

Composés	Positions					
	C3	C4	C5	C6	C7	C8
A	-	0.060	-0.028	-0.135	-0.038	-0.133
B	-	0.117	-0.022	-0.132	-0.035	-0.131
C	-0.238	X	-0.008	-0.175	X	-0.240
D	-	0.074	0.012	-0.176	X	-0.245
E	-	0.131	0.017	-0.174	X	-0.244

Rappelons que lors de la réaction d'iодation, l'oxydation de l'iode sous forme I⁻ en I⁺ (entité électrophile) fait que ce dernier se fixera sur le carbone portant la plus grande charge négative.

D'après les calculs de la répartition des charges pour les cinq composés en AM1 ou en PM3 le premier site d'iодation est en position C6 pour les composés A et B.

Concernant les composés C, D et E le premier site d'iодation est en C8. Les sites d'iодation prédits sont donc en position ortho. Ce résultat était attendu par les principes des activations et d'orientation des groupements.

III-1-1-3- Répartition PM3 des charges des composés A-E mono-iodés

Afin de confirmer les sites de la seconde iodation, les répartitions des charges ont été calculées par la méthode PM3 sur les composés mono-iodés. Les schémas de distribution des charges sur les carbones des cinq composés étudiés, sous leur forme iodée, se trouvent en annexe 5. Les résultats du calcul sont résumés dans le tableau V.

Tableau V: Répartition PM3 des charges des composés mono-iodés

Composés	Positions					
	C3	C4	C5	C6	C7	C8
A	X	0.060	-0.238	-0.135	-0.038	-0.133
A iodé en C6	X	0.058	-0.005	X	-0.016	-0.128
B	X	0.117	-0.022	-0.132	-0.035	-0.131
B iodé en C6	X	0.080	-0.003	X	-0.017	-0.130
C	-0.238	X	-0.008	-0.175	X	-0.240
C iodé en C8	-0.237	X	-0.004	-0.180	X	X
D	X	0.074	0.012	-0.176	X	-0.245
D iodé en C8	X	0.074	0.014	-0.180	X	X
E	X	0.131	0.017	-0.174	X	-0.244
E iodé en C8	X	0.130	0.019	-0.178	X	X

Les résultats du tableau V montrent qu'une première iodation en C6 pour les composés A et B entrainerait un changement de la répartition des charges. C'est la position C8 qui porte la plus grande charge négative, elle devient donc le second site d'iodation. Par contre, pour les composés C, D et E, la première iodation se fait en position C8 et la seconde en position C6. On pourrait en conclure, qu'une première iodation induit une seconde par le changement des répartitions des charges sur les carbones des composés étudiés.

III-1-2-Déplacements chimiques en RMN du proton prédit par logiciel ChemNMR :

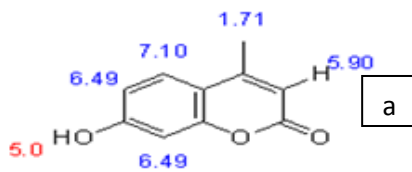
La prédiction des déplacements chimiques en RMN du proton est possible avec ChemNMR. En effet, le pic correspondant au proton qui sera remplacé par la molécule d'iode disparaît dans le spectre RMN du composé iodé. Les spectres RMN du proton des composés A-E et de leurs dérivés iodés sont donnés en annexe 6. Ces résultats sont donc à comparer avec ceux obtenus en pratique.

Nous traiterons ici en détail le cas du composé C (Figure 16):

Les déplacements chimiques du composé C mono-iodé en RMN du proton, montrent l'absence du signal du proton en position C8 correspondant à 6.49 ppm (Figure 17). Quand le composé est di-iodé, on constate alors l'absence du signal proton en position 8 correspondant à 6.49 ppm et en position 6 correspondant à 6.26 ppm (Figure 18). La flèche désigne le pic correspondant au proton qui va être remplacé par l'iode.

Le spectre de simulation du composé C (a), mono-iodé (b) et di-iodé (c) donne les déplacements suivants :

ChemNMR H-1 Estimation



Estimation Quality: blue = good, magenta = medium, red = rough

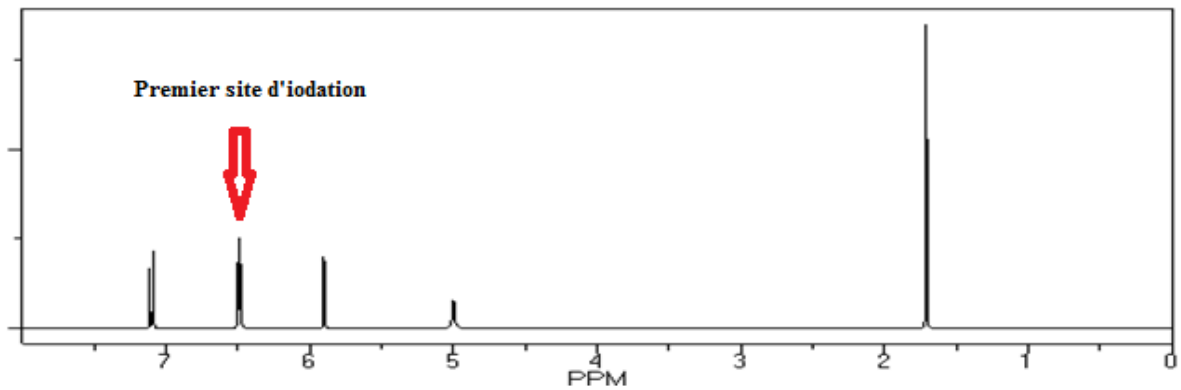
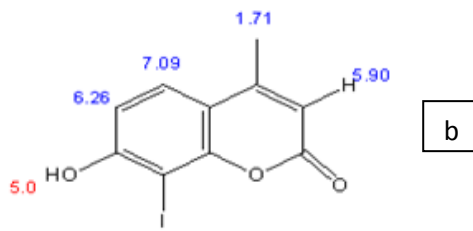


Figure 16: Simulation du composé C

ChemNMR H-1 Estimation



Estimation Quality: blue = good, magenta = medium, red = rough

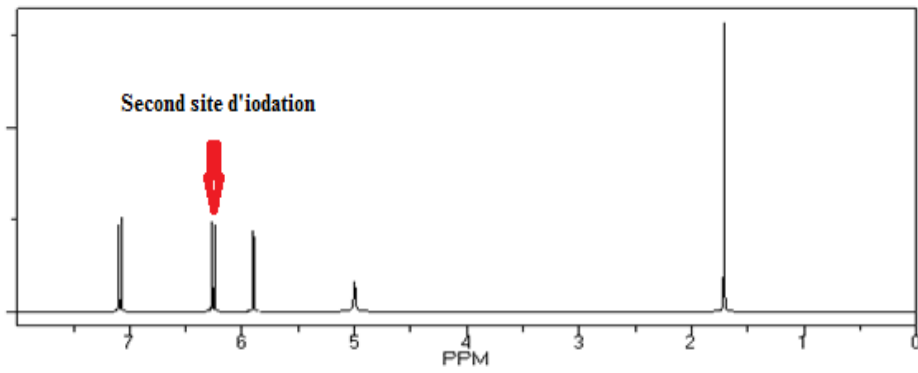
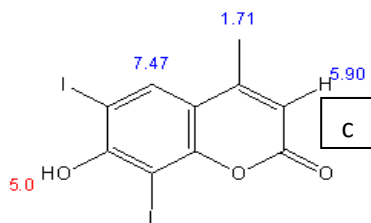


Figure 17 : Simulation du composé C mono-iodé

ChemNMR H-1 Estimation



Estimation Quality: blue = good, magenta = medium, red = rough

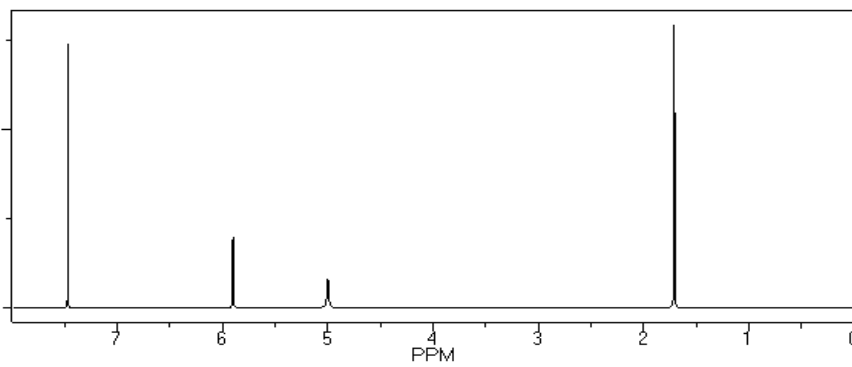


Figure 18 : Simulation du composé C di-iodé

III-1-3-Caractère lipophile prédit par le logiciel ChemSketch :

La valeur de LogP calculée pour chaque composé ainsi que pour son dérivé mono et di-iodé, par le logiciel Chems sketch sont mentionnées dans le tableau VI :

Tableau VI : Valeur du LogP des composés A à E et leurs dérivés mono et di-iodés.

Composés	Valeur LogP			
	LogP	LogP iodo8	LogP iodo6	LogP di-iodé 6,8
A	1.52	2.52	2.79	3.33
B	1.61	2.61	2.88	3.42
C	2.73	3.50	3.77	4.44
D	1.46	2.60	2.87	3.54
E	1.55	2.69	2.96	3.63

Les résultats montrent que le composé C, sous toutes ses formes, est celui qui possède le caractère lipophile (hydrophobe) le plus élevé.

L'étude théorique nous permet donc de sélectionner parmi les cinq composés le composé C : il est le plus lipophile (LogP le plus élevé) et donc le plus indiqué à une éventuelle élaboration d'un radiopharmaceutique. La répartition des charges indique qu'il peut être iodé en deux positions : C8 et C6 .La partie expérimentale devrait confirmer ce résultat.

III-2-Etude expérimentale

III-2-1-Etude UV et fluorescence des composés A-E

III-2-1-1-Etude en UV

L'analyse spectrophotométrique UV-visible des composés A-E a été effectuée dans du méthanol .Les spectres UV sont en annexe 7.

Le composé A donne les résultats suivants :

Les bandes	1	2	3
Longueur d'ondes (nm)	213	298	334
Absorbance	1.77	1.65	0.84

Le composé B donne les résultats suivants :

Les bandes	1	2	3
Longueur d'ondes (nm)	211	297	333
Absorbance	1.54	1.47	0.73

Le composé C donne les résultats suivants :

Les bandes	1	2
Longueur d'ondes (nm)	209	323
Absorbance	1.61	1.25

Le composé D donne les résultats suivants :

Les bandes	1	2
Longueur d'ondes (nm)	366	412
Absorbance	2.61	0.63

Le composé E donne les résultats suivants :

Les bandes	1	2
Longueur d'ondes (nm)	356	412
Absorbance	1.00	0.37

Ces résultats concordent avec ceux de la littérature [23].En effet, nous retrouvons les mêmes bandes (en nombre et en longueur d'ondes).

III-2-1-2-Etude en fluorescence

L'analyse en fluorescence des composés A-E a été effectuée dans du méthanol, les spectres sont en annexe 8. Le calcul du déplacement de Stokes pour chaque composé est résumé dans le tableau VII :

Tableau VII : Calcul du déplacement de Stokes des composés A-E

Composés	λ_{ex} (nm)	$1/\lambda_{ex}$ (cm^{-1})	$\lambda_{ém}$ (nm)	$1/\lambda_{ém}$ (cm^{-1})	Δ Stokes (cm^{-1})
A	334	29940	409	24449	5491
B	333	30030	412	24272	5758
C	323	30959	385	25974	4985
D	412	24271	451	22173	2098
E	412	24271	451	22173	2098

Il apparaît d'après les résultats du tableau VII, que les composés A, B et C sont les plus fluorescents.

III-2-2-Synthèse de dérivés iodés des composés A-E

Le résultat des réactions d'iodation réalisées sur les composés A-E (oxydant : chloramine T, agent d'iodation : NaI, durée de la réaction : 2 heures à 60°C) sont les suivants :

Les CCM des composés A, B, D et E soumis à la réaction d'iodation révèlent une seule tache de R_f identique aux produits de départ purs.

La réaction d'iodation du composé C a montré trois taches en CCM, dont les R_f sont les suivants (Figure 19) :

$R_{f1} = 0.40$ (qui correspond au R_f du composé C)

$R_{f2} = 0.50$

$R_{f3} = 0.60$

La réaction d'iodation n'est donc pas totale puisque le composé de départ est toujours présent mais en plus faible quantité, il n'est pas possible ici de calculer le rendement de la réaction puisque l'on obtient à la fin de la réaction deux produits, que l'on suppose être le composé C mono-iodé ($R_{f2}=0.5$), et le composé C di-iodé ($R_{f3}=0.6$), les composés mono-iodés et di-iodés se forment au bout de 30 minutes. L'étude en RMN complètera notre supposition.

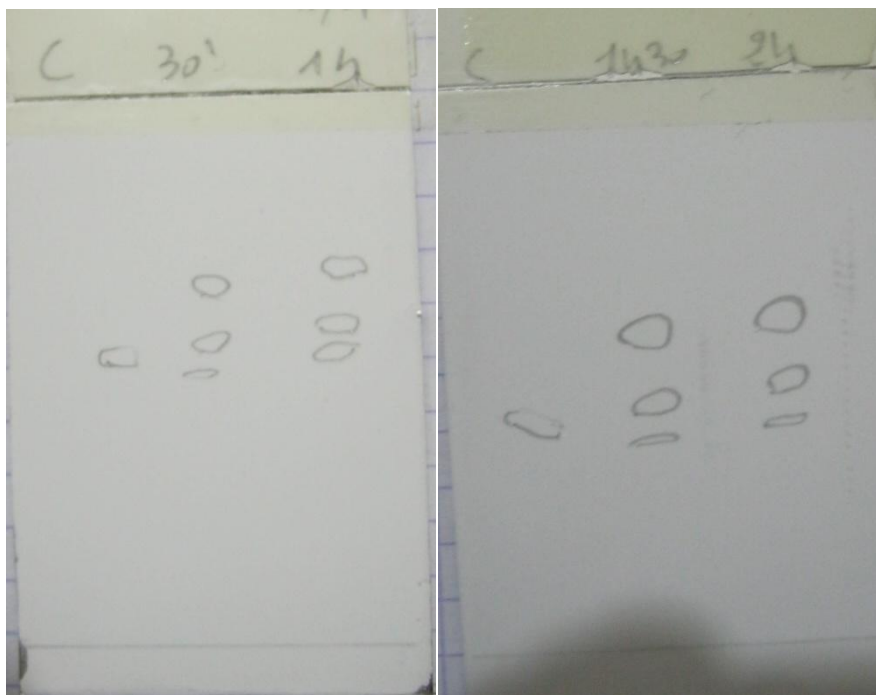


Figure 19 : CCM du composé C et du composé C iodé.

III-2-3-Synthèse « verte » du composé C

Parmi tous les composés A-E le composé C est le plus adapté à la réaction d'iodation dans les conditions adoptées. Il a donc fait l'objet d'une nouvelle synthèse selon trois procédés, les CCM ont révélé une seule tache avec un R_f de 0.40 correspondant à celui de la littérature [83] (DCM/MeOH, 11 :1). Le point de fusion du composé obtenu est de : 185°C, il correspond à celui de la littérature qui est de : 185°C [84].

- Le rendement de la réaction de synthèse par catalyse à l'iode est d'environ 70%.
- Le rendement de la réaction de synthèse par catalyse à l'acide p-toluène sulfonique est d'environ 85%.
- Le rendement de la réaction de synthèse par catalyse à la silice imprégnée de H_2SO_4 est d'environ 80%.

Par cette approche « verte » nous avons donc pu obtenir le composé C avec un rendement de synthèse satisfaisant par catalyse à l'acide p-toluène sulfonique.

III-2-4- Caractérisation par RMN

III-2-4-1- Le Composé C

Le spectre RMN¹H (annexe 9) enregistré à 300 MHz dans le DMSO-d₆ comme solvants avec le TMS comme référence interne donne les résultats suivants :

Tableau VIII : Indexation des spectres

δ en ppm	Nombre de protons	Multiplicité	attribution
10.53	1H	s (large)	H (OH)
7.59	1H	d, J ₅₋₆ =8.4	H(5)
6.81	1H	dd, J ₆₋₈ =2.4, J ₅₋₆ =8.4	H(6)
6.72	1H	d, J ₆₋₈ =2.4	H (8)
6.13	1H	s	H(3)
2.52	3H	s	H du (CH ₃)

- Le nombre de signaux est compatible avec le nombre de proton du composé C.
- La présence des trois signaux 7.59, 6.81 et 6.72 caractérisent le noyau benzénique.
- La présence du signal singulet du proton en position 3 avec une valeur de 6.13ppm indique la présence de la liaison vinylique, ce qui confirme la structure du cycle benzopyronique.
- La présence du signal 2.52ppm indique la présence du proton du groupement méthyle.

Quand on compare le spectre prédit par ChemNMR pour le composé C, avec celui de la pratique, on constate que l'ordre de grandeur des δ est concordant avec quand même des valeurs sous estimés pour les fonctions CH₃ et OH.

III-2-4-2- Le Composé C iodé à la chloramine T

Le spectre RMN¹H enregistré à 300 MHz dans le DMSO-d₆ comme solvants et dans le TMS comme référence interne donne les résultats suivants :

Tableau IX : Indexation des spectres

δ en ppm	Nombre de protons	Multiplicité	attribution
11.37	1H	s	H phénolique
7.62	1H	d, J ₆₋₅ =8.6	H(5)
6.93	1H	d, J ₅₋₆ =8.6	H(6)
6.18	1H	s	H(3)
2.38	3H	s	H du (CH ₃)

L'absence du pic à 6.72 du composé C en position 8 confirme que la mono-iodation s'est faite à cette position (en ortho du radical hydroxyle), et que dans cette expérience le composé C di-iodé n'a pas été détecté. Le spectre RMN de ChemNMR est comparable à celui de la pratique.

III-2-5-Caractérisation par CLHP du composé C et du composé C iodé à la chloramine T

Parmi tous les composés A-E seul le composé C a donné des résultats qui répondent aux exigences d'un choix de molécule modèle à l'étude de la réaction d'iodation. En effet, le composé C possède des propriétés physico-chimiques qui permettent son analyse par les techniques traditionnelles (CLHP, UV, RMN...). Nous avons donc entrepris l'analyse en CLHP du composé C et des prélèvements à des temps différents (30, 60, 90 et 120 minutes) de la réaction de son iodation. Dans un souci d'économie de solvant organique, nous avons utilisés un premier essai le mélange acétonitrile/eau (30/70).

Les chromatogrammes de cette méthode sont donnés dans les figures suivantes (20-24) :

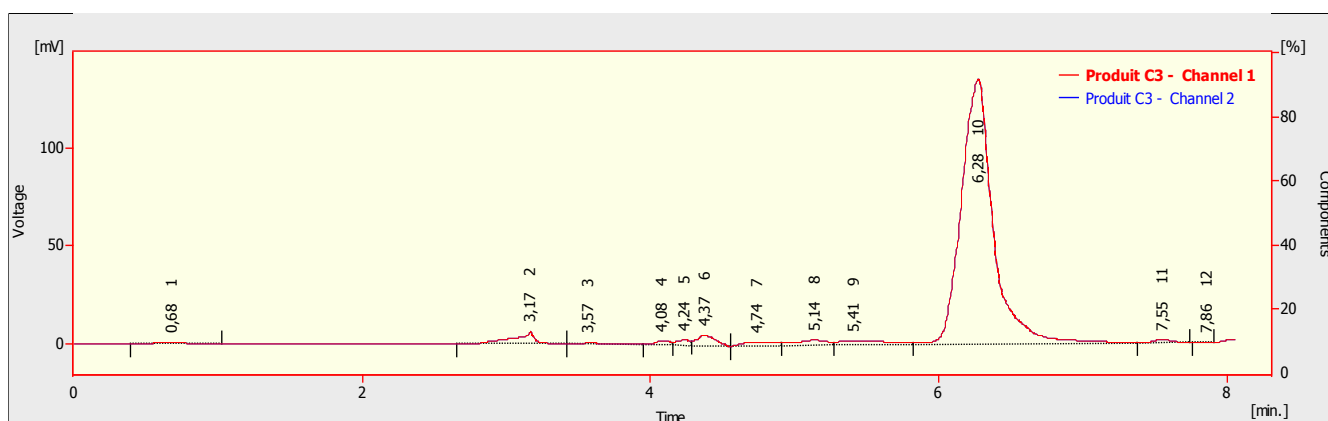


Figure 20 : Analyse chromatographique par CLHP du composé C.

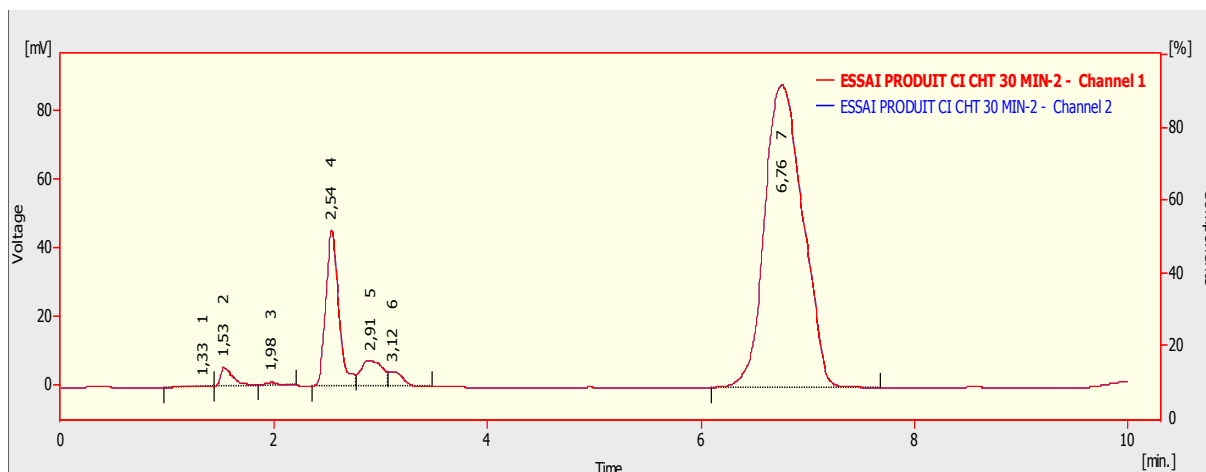


Figure 21: Analyse chromatographique par CLHP de l'échantillon prélevé et traité après 30 minutes de réaction d'iodation.

Résultats et Discussion

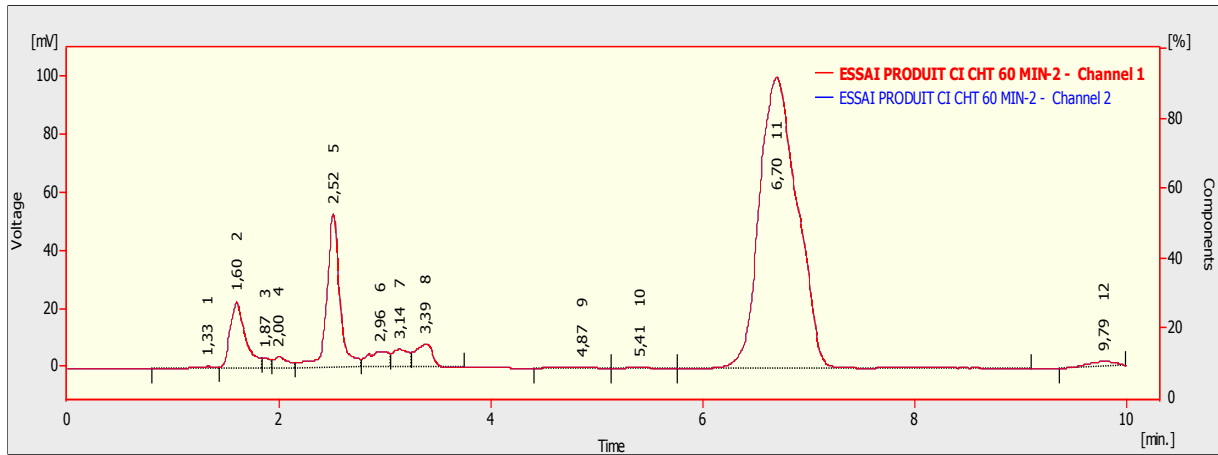


Figure 22 : Analyse chromatographique par CLHP de l'échantillon prélevé et traité après 60 minutes de réaction d'iodation.

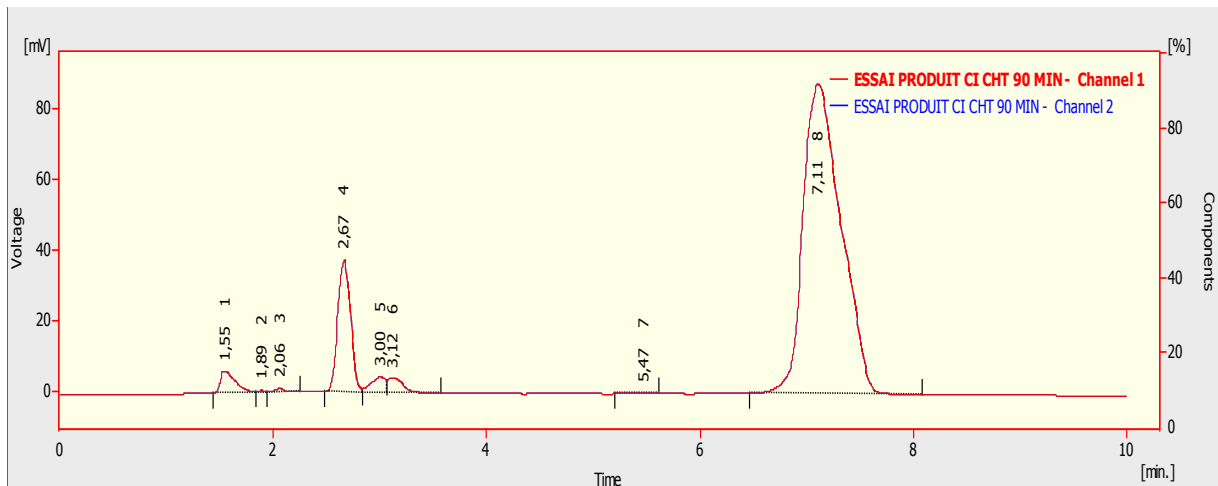


Figure 23: Analyse chromatographique par CLHP de l'échantillon prélevé et traité après 90 minutes de réaction d'iodation

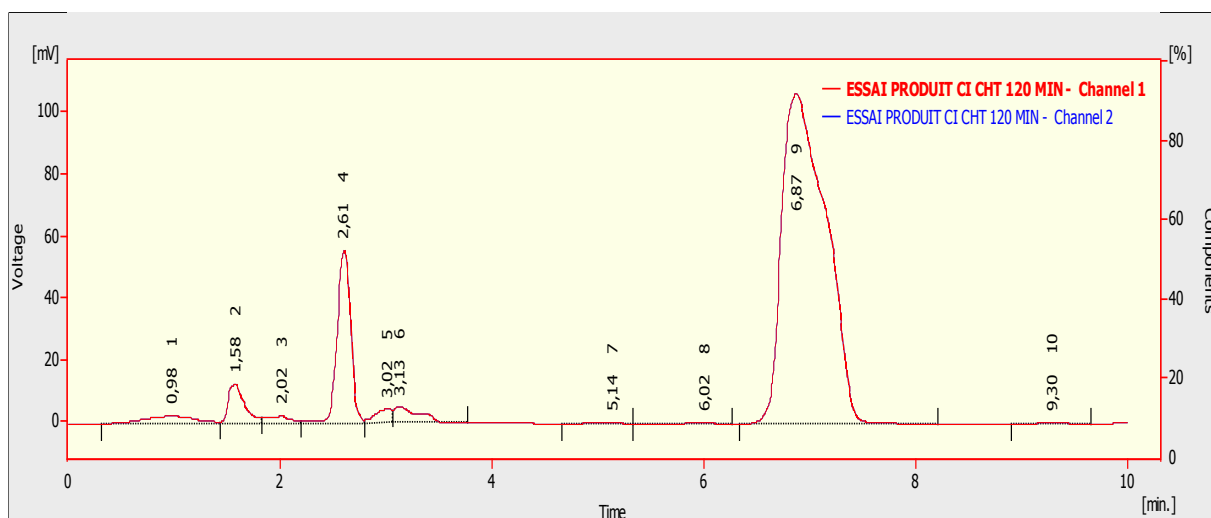


Figure 24 : Analyse chromatographique par CLHP de l'échantillon prélevé et traité après 120 minutes de réaction d'iodation

Pour le composé C pur on obtient un pic à 6,28 minutes (Figure 20). Pour les prélèvements successifs : 30, 60, 90 et 120 (Figures 21-24), on observe un pic de même allure à 6,70 ; 7,11 et 6,87 minutes successivement. On ne retrouve pas sur les chromatogrammes du composé C iodé les pics attendus c'est-à-dire le pic correspondant au composé C et celui correspondant au composé C iodé avec un temps de rétention plus élevé.

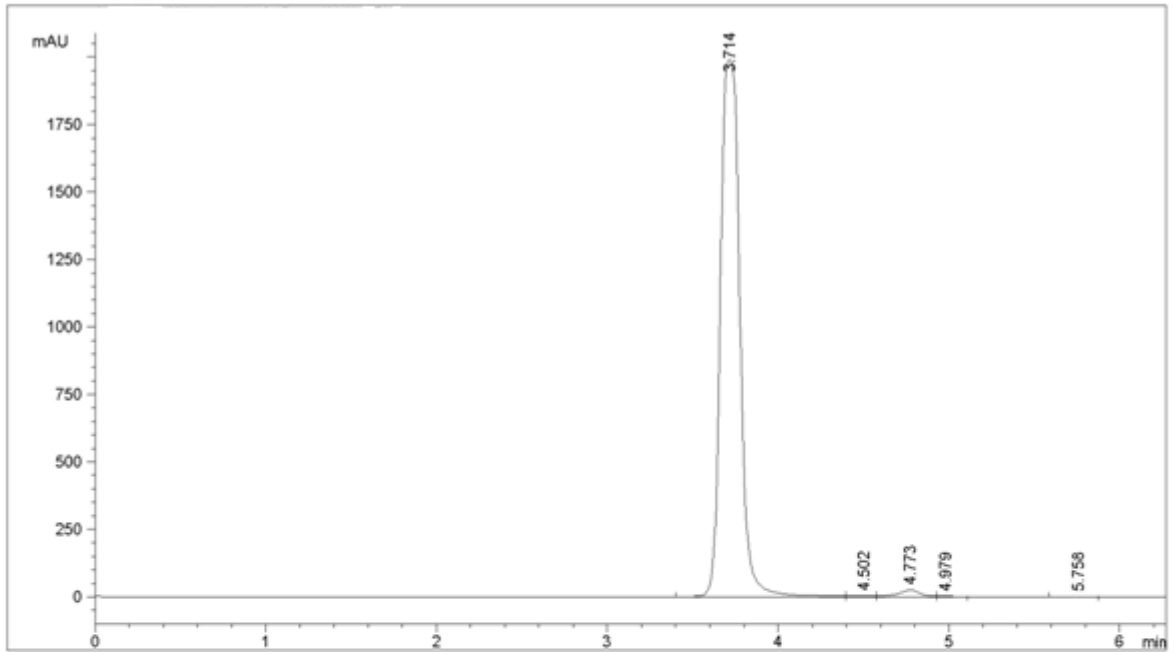
De toute évidence, ces résultats en CLHP ne donnent pas la reproductibilité de temps de rétention pour le composé C et de son produit d'iodation alors que les analyses en RMN ont confirmé sans ambiguïté l'obtention du composé C mono-iodé.

Les conditions choisies dans cet essai ne sont pas les plus indiquées. Nous avons fait varier les proportions acétonitrile/eau et la longueur d'onde. Les nouvelles conditions sont les suivantes :

- **Mode d'éluion** : Isocratique (composition du mélange identique pendant toute l'analyse)
- **Phase mobile** : Acétonitrile/Eau (70/30)
- **Longueur d'onde** : $\lambda=315\text{nm}$
- **Débit** : 1mL/mn
- **Colonne** : C18
- **Volume injecté** : 10 μl

Les analyses du composé C et du composé C iodé à la chloramine T après 90 et 120 minutes de réaction, en CLHP donnent les chromatogrammes suivants (Figures 25-27) :

Résultats et Discussion



Area Percent Report

Sorted By : Signal
Multiplier : 1.0000
Dilution : 1.0000

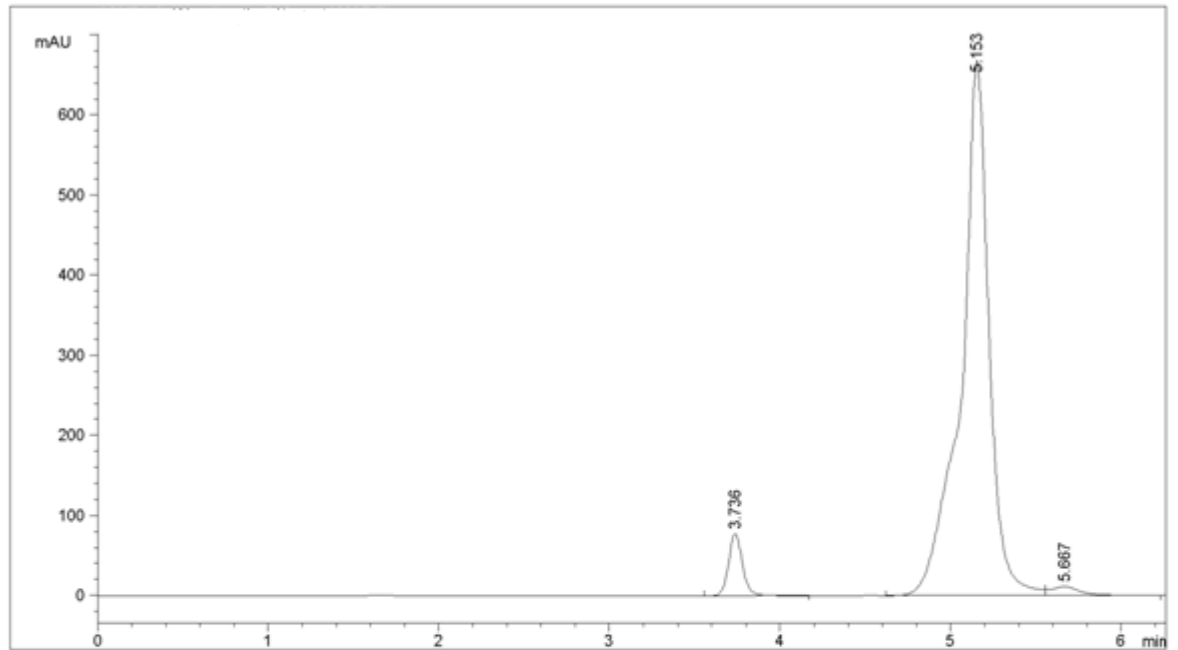
Signal 1: VWD1 A, Wavelength=315 nm

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU *s	Height [mAU]	Area %
1	3.714	VV	0.1241	1.57164e4	1992.16248	97.9972
2	4.502	VV	0.1220	39.02789	4.61299	0.2434
3	4.773	VV	0.1378	241.20494	25.54793	1.5040
4	4.979	VV	0.1210	21.95953	2.66284	0.1369
5	5.758	BV	0.1496	19.01671	1.88769	0.1186

Totals : 1.60376e4 2026.87393

Figure 25 : Analyse chromatographique par CLHP du composé C

Résultats et Discussion



Area Percent Report

Sorted By : Signal
Multiplier : 1.0000
Dilution : 1.0000

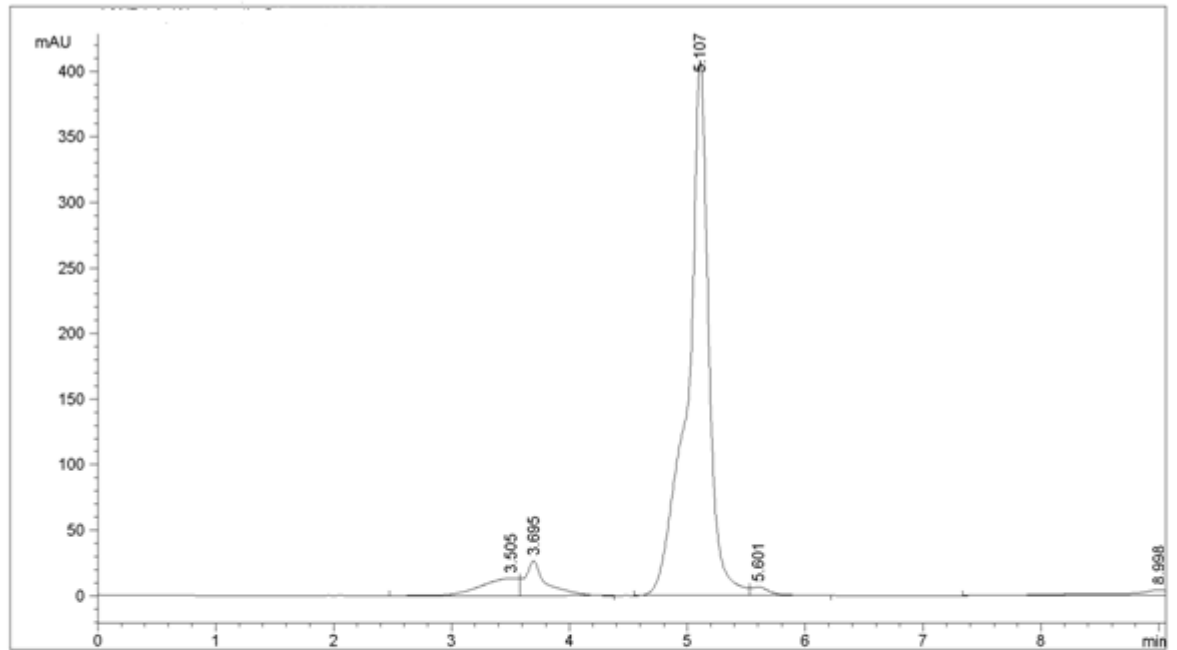
Signal 1: VWD1 A, Wavelength=315 nm

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU *s	Height [mAU]	Area %
1	3.736	BB	0.0873	445.22818	77.61256	5.4643
2	5.153	VV	0.1610	7564.49951	668.95685	92.8387
3	5.667	VB	0.1741	138.27252	11.35213	1.6970

Totals : 8148.00021 757.92154

Figure 26 : Analyse chromatographique par CLHP de l'échantillon prélevé et traité (CAT) après 90 minutes de réaction d'iodation.

Résultats et Discussion



Area Percent Report

Sorted By : Signal
Multiplier : 1.0000
Dilution : 1.0000

Signal 1: VWD1 A, Wavelength=315 nm

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU	Area *s	Height [mAU]	Area %
1	3.505	BV	0.3628	319.65323		13.53874	5.4042
2	3.695	VV	0.1641	332.61374		26.99867	5.6233
3	5.107	VV	0.1716	5039.24609		408.52631	85.1958
4	5.601	VB	0.1693	81.02098		6.74367	1.3698
5	8.998	BBA	0.4192	142.36751		4.44064	2.4069
Totals :				5914.90155		460.24803	

Figure 27 : Analyse chromatographique par CLHP de l'échantillon prélevé et traité (CAT) après 120 minutes de réaction d'iodation.

Après avoir modifié les conditions de la CLHP, nous avons obtenu de meilleurs résultats :

En effet, on obtient un seul pic correspondant au composé C, ce qui prouve que le composé est pur. Son temps de rétention de 3.71 minute (Figure 25).

Le pic correspondant au composé C iodé à la chloramine T prélevé après 90 minutes (Figure 26) de réaction est élué après 5.15 minute, l'aire du pic est estimée à 94.44%. Le prélèvement à 120 minutes (Figure 27) est élué à 5.10 minutes avec une aire estimée à 94.03%, une augmentation du temps de rétention est donc constatée pour le composé C mono-iodé. Le pic correspondant au composé C n'ayant pas réagi est présent en faible concentration sur les chromatogrammes des prélèvements à 90 minutes et 120 minutes (5.56% et 5.97%). Les temps de rétention du composé C mono-iodé démontrent que la réaction se produit en moins d'une heure.

III-2-6-Etude de l'effet de l'agent oxydant et du temps de réaction

III-2-6-1-Caractérisation par RMN

III-2-6-1-1-Le composé C iodé avec un excès de chloramine T

La réaction a été suivie par CCM qui révèle trois taches dont les R_f sont les suivants :

$R_{f1} = 0.30$ (qui correspond au R_f du composé C)

$R_{f2} = 0.40$

$R_{f3} = 0.54$

Le produit de réaction apparaît dès 30 minutes.

Le spectre RMN¹H enregistré à 300 MHz dans le DMSO-d₆ comme solvants et dans le TMS comme référence interne donne les résultats suivant :

Tableau X : Indexation des spectres

δ en ppm	Nombre de protons	Multiplicité	attribution
11.37	1H	s	H phénolique
7.62	1H	d, $J_{6-5}=8.7$	H(5)
6.93	1H	d, $J_{5-6}=8.6$	H(6)
6.18	1H	s	H(3)
2.39	3H	s	H du (CH ₃)

L'absence du pic à 6.72 du composé C confirme que l'iodation s'est faite à la position 8 et qu'un excès en chloramine T ne change pas l'issue de la réaction d'iodation, c'est-à-dire qu'on obtient toujours le composé C mono-iodé en position 8 position ortho. Le composé C di-iodé n'a pas été détecté.

VI-1-2-Le composé C iodé à l'hypochlorite de sodium

La réaction a été suivie par CCM qui révèle deux taches dont les R_f sont : $R_{f1} = 0.50$ (qui correspond au R_f du composé C) et $R_{f2} = 0.61$ (qui correspond au composé C mono-iodé).

Le composé C mono-iodé apparaît dès 30 minutes de réaction.

Le spectre RMN¹H enregistré à 300 MHz dans le DMSO-d₆ comme solvants et dans le TMS comme référence interne, donne les résultats suivant:

Tableau XI : Indexation des spectres

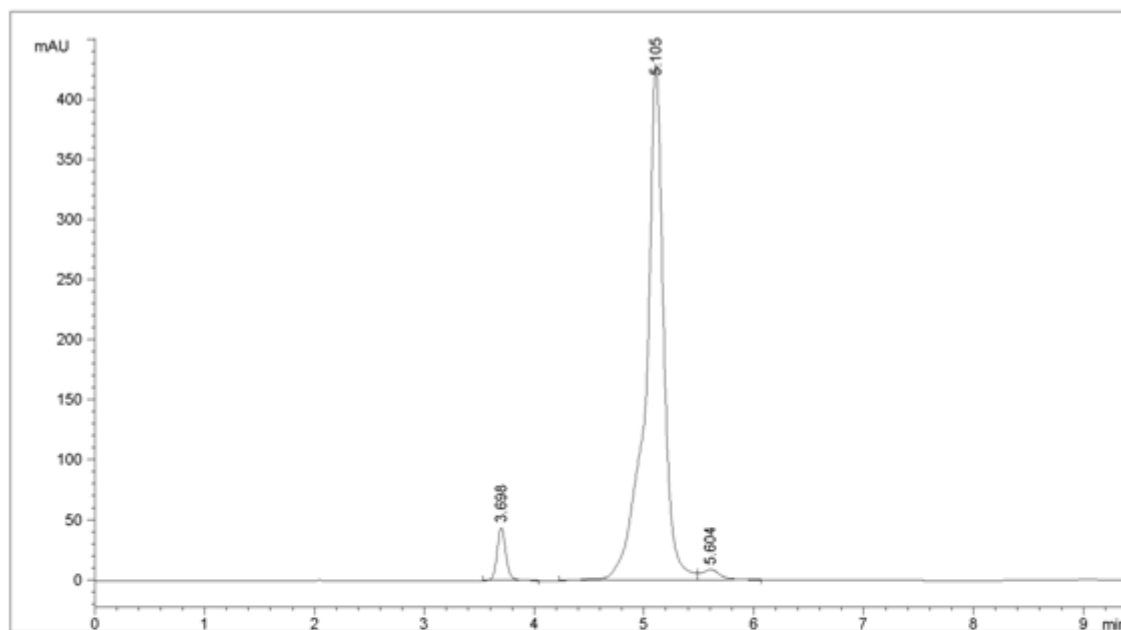
δ en ppm	Nombre de protons	Multiplicité	attribution
11.37	1H	s	H phénolique
7.62	1H	d, $J_{6-5}=8.7$	H(5)
6.93	1H	d, $J_{5-6}=8.6$	H(6)
6.18	1H	s	H(3)
2.38	3H	s	H du (CH ₃)

Les spectres montrent qu'il y a détection du composé C mono-iodé en position 8 puisque nous constatons l'absence du pic à 6.72.

III-2-7-Characterisation par CLHP

III-2-7-1-Le composé C iodé à l'hypochlorite de sodium

Les analyses du composé C iodé à l'hypochlorite de sodium 120 minutes de réaction, en CLHP donnent le chromatogramme suivant (Figure 28):



 Area Percent Report

Sorted By : Signal
 Multiplier : 1.0000
 Dilution : 1.0000

Signal 1: VWD1 A, Wavelength=315 nm

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU	Area *s	Height [mAU]	Area %
1	3.698	BB	0.0865	250.13298	44.16718	44.16718	4.7836
2	5.105	FV	0.1613	4870.75732	429.97354	429.97354	93.1499
3	5.604	VB	0.1743	108.05481	8.85808	8.85808	2.0665

Totals : 5228.94511 482.99880

Figure 28 : Analyse chromatographique par CLHP de l'échantillon prélevé et traité (NaOCl) après 120 minutes de réaction d'iodation.

Le pic correspondant au composé C mono-iodé à l'hypochlorite de sodium en fin de réaction est élué à 5.10 minutes avec une aire estimée à 95.51% (Figure 28), une augmentation du temps de rétention est constatée pour le composé C mono-iodé à l'hypochlorite de sodium. Le pic correspondant au composé C n'ayant pas réagi est présent en très faible concentration (une aire de 4.49%)

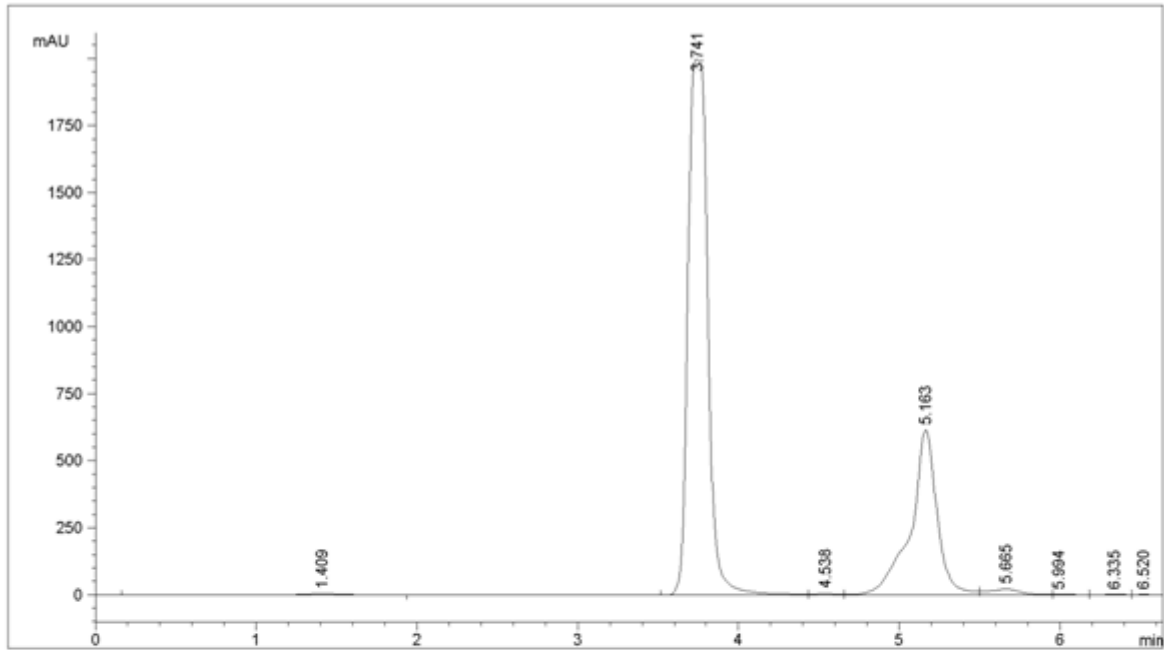
III-2-7-2-Le composé C iodé au peroxyde d'oxygène

La réaction d'iodation avec ou sans H_2SO_4 a été suivie par CCM qui révèle deux taches dont les R_f sont : $R_{f1} = 0.47$ (qui correspond au R_f du composé C) et $R_{f2} = 0.56$ (qui correspond au composé C mono-iodé).

Le composé C mono-iodé apparaît dès 30 minutes de réaction.

Les analyses du composé C iodé au peroxyde d'oxygène après 120 minutes de réaction avec et sans H_2SO_4 , en CLHP donnent les chromatogrammes suivants (Figures 29-30) :

Résultats et Discussion



Area Percent Report

Sorted By : Signal
Multiplier : 1.0000
Dilution : 1.0000

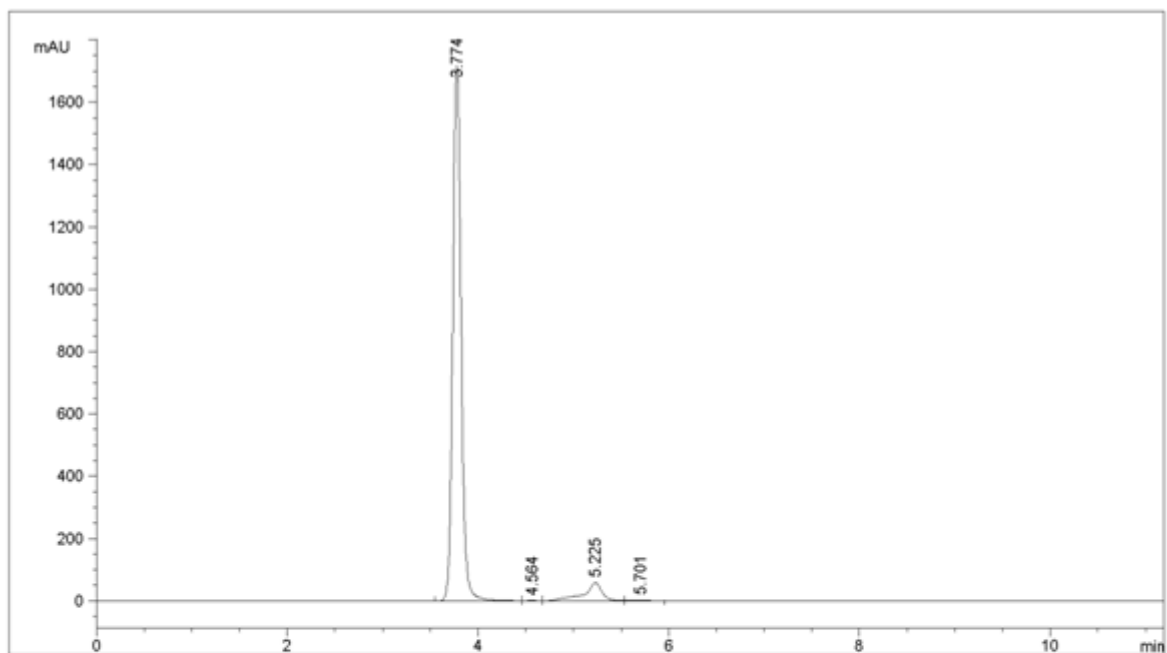
Signal 1: VWD1 A, Wavelength=315 nm

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU *s	Height [mAU]	Area %
1	1.409	BV	0.3707	162.66896	6.13074	0.6547
2	3.741	VV	0.1362	1.70917e4	1998.51282	68.7919
3	4.538	VV	0.1315	61.33447	6.61037	0.2469
4	5.163	VV	0.1636	7103.48389	616.47815	28.5906
5	5.665	VV	0.2048	335.86304	22.86836	1.3518
6	5.994	VV	0.1653	31.84402	2.78863	0.1282
7	6.335	VV	0.2057	33.41108	2.32186	0.1345
8	6.520	VBA	0.1617	25.22109	2.17196	0.1015

Totals : 2.48455e4 2657.88289

Figure 29 : Analyse chromatographique par CLHP de l'échantillon prélevé et traité (H_2O_2 en présence de H_2SO_4) après 120 minutes de réaction d'iodation.

Résultats et Discussion



Area Percent Report

Sorted By : Signal
Multiplier : 1.0000
Dilution : 1.0000

Signal 1: VWD1 A, Wavelength=315 nm

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU *s	Height [mAU]	Area %
1	3.774	FV	0.0949	1.05591e4	1721.14844	92.1648
2	4.564	VV	0.1291	19.73734	2.20730	0.1723
3	5.225	VV	0.1919	830.82477	59.56181	7.2518
4	5.701	VV	0.2046	47.09634	3.18414	0.4111

Totals : 1.14568e4 1786.10169

Figure 30 : Analyse chromatographique par CLHP de l'échantillon prélevé et traité (H_2O_2 sans H_2SO_4) après 120 minutes de réaction d'iodation

L'étude en CLHP montre que l'échantillon prélevé après 120 minutes de réaction d'iodation du composé C iodé au peroxyde d'oxygène en présence de H₂SO₄ est élué à 5.16 minutes (Figure 29). La concentration du composé C mono-iodé est faible (une aire de 29.35%), celle du composé C est élevée (une aire de 70.64%) ce qui démontre que la réaction s'est produite avec un faible rendement.

Les chromatogrammes de la réaction d'iodation au peroxyde d'oxygène sans H₂SO₄ (Figure 30), montrent que le composé C mono-iodé est présent en très faible quantité (une aire de 7.3%), il est évident que sans la présence de H₂SO₄ la réaction ne se produit quasiment pas.

III-2-8-Etude de l'effet du rapport molaire composé C/agent d'iodation

La réaction d'iodation avec un excès de NaI a été suivie par CCM qui révèle une seule tache d'un R_f = 0.64 (qui correspond au composé C di-iodé)

Le composé C di-iodé apparaît aussi dès 30 minutes de réaction. Donc un excès en agent d'iodation conduit à l'obtention d'un composé di-iodé et la réaction est complète.

Le spectre RMN¹H enregistré à 300 MHz dans le DMSO-d₆ comme solvants et dans le TMS comme référence interne, donne les résultats suivants:

Tableau XII : Indexation des spectres

δ en ppm	Nombre de protons	Multiplicité	attribution
8.07	1H	s	H(5)
6.23	1H	s	H(3)
2.40	3H	s	H du (CH ₃)

L'absence des deux pics à 6.72 et 6.81 confirme que le composé C a été iodé en positions C8 et C6 donc c'est un composé di-iodé que nous obtenons avec un excès de NaI. Le spectre RMN de ChemNMR est comparable à celui de la pratique.

Les différentes expériences effectuées sur le composé C nous ont permis de mettre en place le protocole d'iodation permettant d'obtenir un composé mono-iodé en majorité, on a testé trois oxydants, dont deux sont utilisables dans les marquages à l'iode 125 : la chloramine T et le peroxyde d'oxygène, seule la chloramine T a permis l'obtention du composé C mono-iodé en majorité. L'utilisation d'un excès en NaI n'est pas appropriée car elle conduit à l'obtention d'un composé di-iodé. Le temps de réaction minimum est de 30 minutes.

III-2-9- Marquage du composé C à froid

Toutes les approches précédentes nous ont conduits à proposer une méthode de marquage à froid (avec la molécule d'iode non radioactive) à la chloramine T dans un volume réactionnel de 1ml avec le minimum de molécules d'iode ainsi qu'une étape de chauffage à 100°C pendant 3 minutes et 60°C pendant 20 minutes.

La CCM de la réaction montre trois taches dont les R_f sont les suivants :

- $R_{f1} = 0.31$ (qui correspond au R_f du composé C)
- $R_{f2} = 0.37$
- $R_{f3} = 0.48$

D'après ces résultats et selon ceux obtenus dans les manipulations précédentes nous sommes en mesure de dire que dans le mélange réactionnel obtenu coexistent le composé C, le composé C mono-iodé et le composé C di-iodé.

III-2-10-Contrôle de qualité du composé C marqué à l'iode 125

Le marquage du composé C (2×10^{-6} mole) a été réalisé avec 0.5mCi de NaI^{125} et en présence de chloramine T (10^{-5} mole).

III-2-10-1-Contrôle du rendement de marquage

Comme indiqué dans le tableau XIII, le rendement de marquage est de 64.5% dans la réaction de radioiodation directe du composé C.

Tableau XIII : Calcul du rendement de marquage

Activité totale (μCi)	Comptage du surnageant (μCi)	Comptage du culot (μCi)	Pourcentage de marquage %
517.8	133.47	333.88	64.5

III-2-10-2-Contrôle de la pureté radiochimique (PRC)

La radioactivité mesurée sur le compteur gamma est exprimée en cpm, selon les expérimentations faites à froid dans le système d'élution DCM/MeOH, la molécule iodée migre au front du solvant, l'iode libre, reste au point de dépôt de l'échantillon.

La pureté radiochimique du composé C calculée (Figure 31) est en parfaite concordance avec les normes préconisées par la Pharmacopée Européenne (>90%) et est de 99.98%.

III-2-10-3-L'activité spécifique

L'activité spécifique est de 18.83 $\mu\text{Ci}/\mu\text{g}$

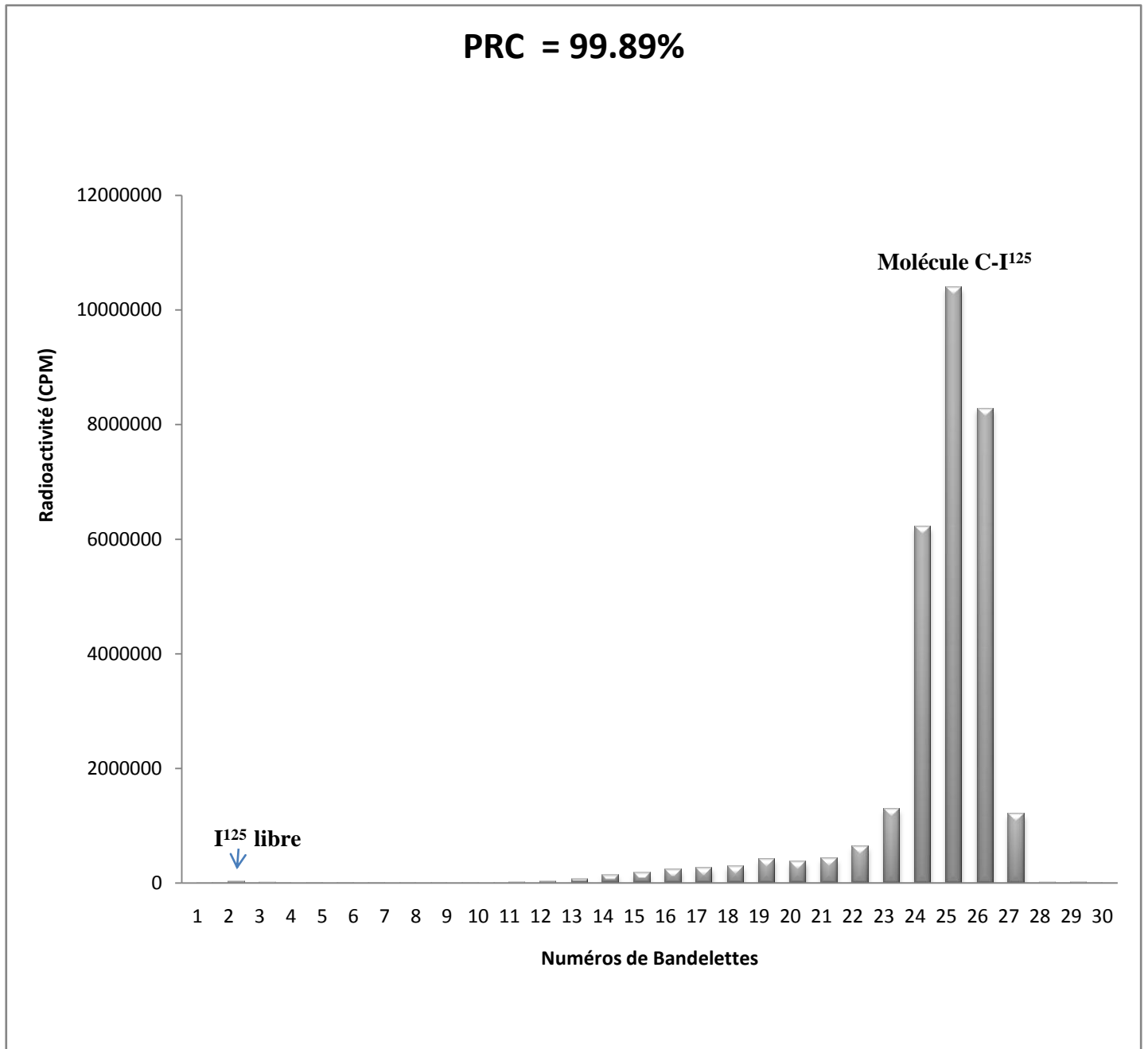


Figure 31 : Profils chromatographique d'ascendance sur papier ITLC-SG du composé C-¹²⁵I
(Phase mobile: DCM: MeOH)

III-3-Discussion générale:

L'étude théorique réalisée sur les cinq dérivés de la coumarine a permis de prévoir les sites d'iodation, les déplacements chimiques en RMN du proton ainsi que la valeur du coefficient de partage (LogP). L'étude de la lipophilie a mis en évidence la nette prédominance du composé C sur les autres composés étudiés.

Les résultats d'analyses UV réalisées sur les cinq dérivés de la coumarine concordent avec ceux de la littérature.

La fluorescence du composé C a été démontrée par le calcul du déplacement de Stokes sa valeur (4985 cm^{-1}) est proche de celle de la littérature (4782 cm^{-1}) [5].

L'étude théorique a permis de démontrer que le composé C est le plus lipophile. Il semble être le candidat le plus indiqué à une éventuelle élaboration d'un radiopharmaceutique. Les sites d'iodation prédits sont la position C8 pour la mono-iodation, et la position C6 pour la di-iodation.

La partie expérimentale a démontré que seul le composé C répondait favorablement au protocole d'iodation appliqué aux cinq dérivés, de ce fait, nous n'avons pas cherché à répéter l'expérience avec les quatre autres composés, puisque notre but était de mettre au point un protocole de marquage à l'iode 125 avec un composé doté d'une bonne liposolubilité afin qu'il puisse atteindre ses cibles en étude de biodistribution. De plus, l'étude théorique a permis de sélectionner le composé C pour la suite des manipulations.

Ainsi, nous nous sommes attelés à synthétiser ce composé selon trois procédés différents et en suivant les préceptes de la chimie verte afin de réduire au maximum l'impact négatif sur l'environnement. Cette synthèse « verte » (synthèse sous irradiation micro-ondes, avec catalyseurs et sans solvant) a permis d'obtenir le composé C avec un rendement satisfaisant (85%).

Les réactions d'iodation effectuées avec la chloramine T et l'hypochlorite de sodium (NaOCl) ont permis d'obtenir la mono-iodation du composé C. Les résultats des analyses en RMN ont bien confirmé les sites d'iodation prédits par les calculs théoriques du composé C c'est-à-dire en position ortho : la position C8 pour la réaction de mono-iodation.

Une réaction d'iodation avec du peroxyde d'oxygène (H_2O_2) a également été effectuée, avec ou sans H_2SO_4 . La CCM a révélé deux taches suggérant l'obtention d'un produit mono-iodé.

Quel que soit l'oxydant utilisé, nous avons remarqué que la réaction d'iodation a lieu au bout de 30 minutes de réaction.

Le protocole adopté (quantités équimolaires du composé C, de la chloramine T et du NaI sous reflux à 60°C) a permis d'obtenir un composé mono-iodé en majorité car les CCM montraient l'existence d'une troisième tache qui serait le composé C di-iodé, néanmoins les analyses RMN ont mis en évidence un composé mono-iodé, cela est peut être du au seuil de détection de l'appareil ou bien à la très faible quantité du composé di-iodé dans le mélange réactionnel.

L'utilisation d'un excès de NaI (agent d'iodation) a conduit à l'obtention d'un composé di-iodé, cette réaction est complète et les analyses en RMN le confirment. En effet, il en ressort que deux positions sont des sites d'iodation : C8 et C6. Ceci concorde avec les calculs

théoriques des répartitions des charges du composé C mono-iodé qui donnaient la position C6 comme second site d'iodation.

Les analyses en CLHP des réactions d'iodation effectuées avec les trois oxydants (chloramine T, NaOCl et H₂O₂) ont permis de mettre en évidence le caractère lipophile du composé C mono-iodé : un composé iodé voit son temps de rétention augmenté. En effet, c'est ce qui a été constaté qu'après avoir changé les conditions opératoires de la CLHP, nous voulions réduire la quantité en acétonitrile de la phase mobile (acétonitrile/eau, 30/70) mais un réajustement de la composition de la phase mobile (acétonitrile/eau, 70/30) a été nécessaire, avec ajustement de la longueur d'onde (de 254 à 315nm) également .

Nous n'avons pas constaté de second pic sur les chromatogrammes pouvant correspondre au composé C di-iodé, cette analyses confirme donc l'obtention du composé C mono-iodé en majorité selon le protocole adopté.

Des trois oxydants utilisés, la chloramine T et l'hypochlorite de sodium se sont révélés les plus efficaces.

La méthode de mono-iodation étant établie, nous avons procédé à la réaction de marquage mais à froid, c'est-à-dire que nous avons procédé à une réaction d'iodation du composé C avec de l'iode froid (non radioactif) dans les mêmes conditions que le marquage à l'iode 125. Cette étape est importante car elle permet d'éviter de chercher à optimiser les paramètres de la réaction de marquage avec de l'iode radioactif.

Il a fallu ajuster certaines étapes de la réaction de marquage, nous avons réduit le temps de réaction, réduit les volumes réactionnels et les concentrations du composé C et de la chloramine T. L'étude en CCM à froid a montré trois taches donc il y a possibilité d'obtenir le composé C di-iodé. Le temps d'incubation le plus court permettant d'obtenir le composé iodé a été défini dans les essais à froid, il est de 30 minutes, pour le marquage radioactif ce temps a été diminué à 23 minutes.

Le marquage à l'iode 125 a été obtenu avec un bon rendement et une pureté radiochimique supérieure à 95%.

Il n'est pas possible de dire que le composé C marqué à l'iode 125 et mono ou di-iodé, car pour cela il aurait fallu procéder à une analyse CLHP dédiée aux radiopharmaceutiques afin de repérer les pics correspondants aux deux formes, il est donc possible que le composé C marqué à l'iode 125 existe sous forme mono-iodée, di-iodée ou bien sous les deux formes simultanément. Ce problème se pose aussi pour le marquage des protéines, car les résidus « tyrosine » (acide aminé) naturellement présents dans la protéine sont susceptibles d'être aussi di-iodés.

CONCLUSION

Conclusion

Ce travail préliminaire portant sur l'étude de la réaction d'iodation électrophile de cinq dérivés coumariniques en vue d'étudier la possibilité de synthétiser un radiopharmaceutique, a fait l'objet de plusieurs techniques à savoir : analyses UV et fluorescence, synthèse sous reflux et sous micro-onde, analyses en RMN du proton, analyses en CLHP et radiomarquage à l'iode 125.

Cette étude devait permettre de mettre au point une méthode qui permet d'obtenir un composé mono-iodé, chose que nous avons réussi à réaliser tout en essayant au maximum de respecter les préceptes de la « chimie verte ».

La contribution de la chimie théorique n'a pas été négligeable dans ce travail, car elle a permis de confirmer nos résultats expérimentaux. Elle nous a aussi orienté vers le composé susceptible de satisfaire les critères exigés d'un futur radiopharmaceutique.

Le composé C fut sélectionné pour un essai de radiomarquage. L'essai de radiomarquage s'est révélé concluant car il a permis d'atteindre un rendement satisfaisant de 64.5%.

L'évaluation du traceur obtenu a donné une pureté radiochimique de 99.89% et une activité spécifique de 18.83 μ Ci/ μ g.

Notre étude a permis de démontrer qu'un marquage radioactif est possible sur le composé sélectionné et simple à mettre en œuvre.

Ces résultats sont encourageants et la suite de ce travail réside dans la recherche du potentiel de ce composé marqué à l'iode 125 en tant que radiopharmaceutique.

Pour cela il nous faut :

- Procéder à d'autres essais de marquage à l'iode 125 afin d'améliorer le rendement de marquage.
- Trouver des solvants compatibles avec une administration chez les animaux et dans lesquels le composé C soit soluble car il est lipophile et donc soluble dans les solvants organiques.
- Etudier le caractère lipophile du composé radiomarké afin de savoir si la fixation des atomes d'iode modifie les propriétés physico-chimiques du composé.
- Etudier les propriétés thérapeutiques de ce composé (propriétés anticancéreuses, antifongiques...etc).
- Etudier la stabilité du composé radiomarké, celle-ci doit durer au moins 24 heures en solution aqueuse permettant ainsi sa préparation sous forme de médicament prêt à l'emploi ou de médicaments multidoses.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- [1] Adam C., Debayle C., Carel D., Cavalié I. (2006). Les produits radiopharmaceutiques dans les effluents hospitaliers et domestiques. *Environnement, Risque & Santé*.5 :254-240
- [2] Hamimed, S.2009. *Caractérisation chimique des principes à effet antidermatophyte des racines d'Anacyclus pyrethrum L.* Thèse de doctorat, Université Mentouri-Constantine
- [3] Bruneton J. (1999). Pharmacognosie, Phytochimie et Plantes médicinales. 3^{ème} Edition, Tec et Doc, Paris.
- [4] Louit, G.2005. *Développement de sondes fluorescentes du radical hydroxyle : caractérisation et modélisation de la réactivité de molécules dérivées de la coumarine avec HO•.* Thèse de doctorat, Université de Paris-Sud.
- [5] Lamine CISSE.M.(1999). *Etude des propriétés photophysiques des coumarines substituées.* Thèse de doctorat, Université Cheikh Anta Diop de Dakar.
- [6] Park S.W., Seo B.S., Kim E.H.; Kim D.H., Paeng K. J.(1996). Purification and determination procedure of coumarin derivatives. *J. Forensic Sci.*41: 685-688.
- [7] Miyake Y., Murakami A., Sugiyama Y., Isobe M., Koshimizu K., Ohigashi H.(1999). Identification of coumarins from lemon fruit (*Citrus lemon*) as inhibitors of in vitro tumor promotion and superoxide and nitric oxide generation. *J. Agric. Food Chem.*47: 3151-3157.
- [8] Ito I., Itoigawa M., Mishina Y., Filho V.C., Enjo F., Tokuda H., Nishino H., Furukawa, H.(2003). Chemical constituents of *Calophyllum brasiliense*. 2. Structure of three new coumarins and cancer chemopreventive activity of 4-substituted coumarins. *J. Nat. Prod.* 66: 368-371.
- [9] El-Agrody A.M., Abd El-Latif M.S., El-Hady N.A., Fakery A.H., Bedair A. H.(2001). Heteroaromatization with 4-hydroxycoumarin Part II: Synthesis of some new pyrano[2,3-d]pyrimidines, [1,2,4]triazolo[1,5-c]pyrimidines and pyrimido[1,6-b]-[1,2,4]triazine derivatives. *Molecules*.6: 519-527.
- [10] Appendino G., Mercalli E., Fuzzati N., Arnoldi L., Stavri M., Gibbons S., Ballero M., Maxia A.(2004). Antimycobacterial coumarins from the sardinian giant fennel (*Ferula communis*). *J. Nat. Prod.*67: 2108-2110.
- [11] O'Kennedy R., Thornes R.D.(1997). Coumarins: biology applications and mode of action. Wiley&Son, Chichester: 241-253.
- [12] Bailly F., Maurin C., Teissier E., Vezin H., Cotelte P.(2004). Antioxidant properties of 3-hydroxycoumarin derivatives. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*12: 5611-5618.
- [13] Silván A.M., Abad M. J., Bermejo P., Sollhuber M., Villar A.(1996). Antiinflammatory activity of coumarins from *Santolina Oblongifolia*. *J. Nat. Prod.*59: 1183-1185.
- [14] Curini M., Epifano F., Maltese F., Marcotullio M.C., Prieto-González S., Rodríguez J.C.(2003). Synthesis of Collinin, an antiviral Coumarin. *Aust. J. Chem.* 56: 59-60.

Références bibliographiques

- [15] Curini M., Epifano F., Maltese F., Marcotullio M.C., Tubaro A., Altinier G., Prieto-González S., Rodríguez J.C. (2004). Synthesis and anti-inflammatory activity of natural and semisynthetic geranyloxycoumarins. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 14:2241-2243.
- [16] Brühlmann C., Ooms F., Carrupt P.A., Testa B., Catto M., Leonetti F., Altomare C., Carotti A. (2001). Coumarin derivatives as dual inhibitors of acetylcholinesterase and monoamine oxidase. *J. Med. Chem.* 44: 3195-3198.
- [17] Zinsli P.E. (1974). Investigation of rate parameters in chemical reactions of excited hydroxycoumarins in different solvents. *J. Photochem. Photobiol. A*. 3: 55-69.
- [18] Petrola R. (1986). Absorptiometric and fluorometric study on the protonation of some hydroxyl-substituted 2H-pyran-2-ones. *Finnish Chem. Lett.* 13: 185-191.
- [19] Creaven P.J.; Parke, D.V.; Williams, R.T. (1965). A spectrofluorimetric study of the 7-hydroxylation of coumarin by liver microsomes. *Biochem. J.* 96: 390-398.
- [20] Arora, H.K., Aggarwal A. R., Singh, R. P. (1982). Acid dissociation constants of electronically excited coumarins. *Indian J. Chem.* 21: 844.
- [21] Bababunmi E.A., French M.R., Rutman R.J., Bassir O. (1975). A Study of the fluorescence of 5-hydroxycoumarin 5-methoxycoumarin and Aflatoxin B₁. *Biochem. Soc. Trans.* 3: 940-943.
- [22] Kozinski M., Jarzeba W., Vuilleumier R. (2004). Solvation dynamics of coumarin 153 in benzene-acetonitrile and benzene-methanol mixtures: a Molecular Dynamics study. University Paris VI. p:245-8.
- [23] Fringuelli F., Piermatto O., Pizzo F. (2003). One-Pot Synthesis of 3-Carboxycoumarins via Consecutive Knoevenagel and Pinner Reactions in Water. *Synthesis*. 35: 2331-2334.
- [24] Temsamani K.R. (2007). La chimie verte. *Les technologies de laboratoire*. 5 :19-24.
- [25] Astuc D., Dalko P., Deville M-H., Fages F., Fillaut J-L., Haudrechy A., Landais Y., Loupy A., Michelet D., Serein-Spirau F., Seyden-Penne J. (1999). Méthodes et Techniques de la Chimie Organique. Presse Universitaire de Grenoble. p 239.
- [26] Cresswell S.L., Haswell S.J. (2001). Microwave ovens out of the Kitchen. *J. Chem. Educ.* 78: 900-904.
- [27] Gedye R., Smith F., Westaway K., Ali H., Baldisera L., Laberge, L., Rousell J. (1986). The Use of Microwave ovens for Rapid Organic Synthesis. *Tetrahedron Lett.* 26: 279-282.
- [28] Giguere R.J., Bray T.L., Duncan S.M., Majetich, G. (1986). Application of commercial microwave ovens to organic synthesis. *Tetrahedron Lett.* 27, 4945-4948.
- [29] Loupy A. (2002). Microwaves in organic synthesis. *Wiley-VCH ed.*

Références bibliographiques

- [30] Lidstöm P., Tierney J., Wathey B., Westerman J.(2001). Microwave assisted organic synthesis, a review. *Tetrahedron*. 27:4945-4948.
- [31] Caddick S.(1995). Microwave assisted organic reactions. *Tetrahedron*. 51:10403-10432.
- [32] Majetich G., Hicks R.(1995) Application of Microwave-Accelerated organic synthesis. *Radiat. Phys. Chem.* 45 : 567-579.
- [33] Loupy A. (2004).Synthèse organique sous micro-ondes en absence de solvant : un procédé efficace pour la chimie verte. *Act. Chim., fév.* p. 18-26.
- [34]Varma R.S.(1999).Solvent-free organic synthesis using supported reagents and microwave irradiation . *Green Chem.* p:115-125.
- [35] Cintas P., Luche J-L. (1999). Green Chemistry, The Sonochemical approach. *Green Chem.* 1: 43-55
- [36] Sherrmann M.C., Lubineau A.(2003).Synthèse organique en phase aqueuse. *Act. Chim.* p.72-76.
- [37]Fringuelli F., Piermatti O., Pizzo F.(2004).One-pot synthesis of 7-hydroxy-3-carboxycoumarin in water. *J. Chem. Educ.* 81: 874-876.
- [38] Smith K. (éd.)(1992).Solid supports and catalysts in organic synthesis. *Prentice Hall*.
- [39] Cheymol N., Eastes R.E., Hoff M.(1998). La microchimie: une nouvelle façon de penser dans l'enseignement de la chimie expérimentale. *Act. Chim.* p.10.
- [40] Gabriel C., Gabriel S., Grant E.H., Halstead B. S. J., Mingos D.M.P.(1998). Dielectric parameters relevant to microwave dielectric heating. *Chem. Soc. Rev.* 27: 213-223.
- [41] Ern  B.H.(2000).Thermodynamic of Water superheated in the microwave oven. *J. Chem.Educ.*77: 1309.
- [42] Brown K.(1998). Chemoinformatics: What is it and how does it impact drug discovery. *Annual Reports in Medicinal Chemistry*.33: 375-384.
- [43] Hehre W.J., Lathan W.A., Ditchfield V., Newton M.D., Pople J.A.(1970).Gaussian 70.Quantum Chemistry Program Exchange, Program No. 237.
- [44] Graham L.P.(2002).Chimie pharmaceutique. *Edition: de Boeck.* p:260-261.
- [45] Zalutsky MR., Reardon DA., Pozzi OR., Vaidyanathan G., Bigner DD.(2007) Targeted alpha-particle radiotherapy with (211)At-labeled monoclonal antibodies. *Nucl. Med. Biol.* 34 : 779-85.
- [46] Teillac J., Chetioui A.(2004). Radioactivité. Dans *Encyclopédie Universalis*.
- [47] Foos J.(1994). Manuel de radioactivité   l'usage des utilisateurs. Formascience, Orsay.

Références bibliographiques

- [48] **Mitra A.2008.** *Nouveaux radiotraceurs peptidiques pour l'imagerie nucléaire.* Thèse de doctorat, Université Joseph Fourier- Grenoble I.
- [49] **Ardisson, V. 2006.** *Evaluation de nouveaux radiopharmaceutiques : synthèse, évaluation et biodistribution de nouveaux radioligands peptidiques de VCAM-1 et $\alpha V\beta 3$.* Thèse de doctorat, Université Joseph Fourier - Grenoble I.
- [50] **Barbier Y., Galy G.(1995).** Les radiopharmaceutiques (Guide pratique du contrôle qualité en médecine nucléaire). *Editions de l'ACOMEN.*
- [51] **Adam W., Degen H.G., Pastor A., Sara-Moller C.R., Schambony S.B., Zhao C.G.(2000).** In peroxide chemistry: mechanistic and preparation aspects of oxygen transfer (ed.W. Adam), Wiley-VCH:Weinheim, pp.78-112.
- [52] **Lagnika, L. 2005.** *Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes béninoises.* Thèse de doctorat. Université Louis Pasteur.
- [53] **Boudonneu M., (1990).** La détection inverse en RMN, *Analysis n°1*, Vol. 18.
- [54] **Alkhatib, R.2010.** Étude phytochimique et activité cytotoxique des métabolites secondaires de *Ferula elaeochytris* Korovin et *Ferula lycia* Boiss. Thèse de doctorat. Université Lille Nord de France
- [55] **Gunther H., (1994).** La spectroscopie de RMN, Masson, Paris.
- [56] **Bräse, S., Schroen M.(1999).** Efficient cleavage. Cross-coupling strategy for solid-phase synthesis: A modular building system for combinatorial chemistry. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 38:1071-1073.
- [57] **Dyer, J. R. (1967).** Spectroscopie d'absorption appliquée aux composés organiques. *Dunod Paris ed.*; p 154.
- [58] **Valeur B. (2004).** Invitation à la fluorescence moléculaire, *chap. 3 Ed. De Boeck.*
- [59] **Hermann Dugas. (1996).** Principe de base en modélisation moléculaire. 4^{ème} Edition. *Montréal Université de Montréal.*
- [60] **Amin A.M., Gouda A.A., El-Sheikh R., Seddik U., H.Hussien H.(2009).** Radioiodination, purification and bioevaluation of Piroxicam in comparison with Meloxicam for imaging of inflammation *Journal of radioanalytical and Nuclear chemistry*, Vol 280, N° .3 :589-598.
- [61] **Pechmann V. H.; Duisberg C.(1884).** Novel synthesis of coumarins. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*; 17, **1884**, 929-936
- [62] **Pechmann V.H.(1883).** Compounds derived from phenol and acetoacetic ester. *Ber* 16:2119-2128
- [63] **Pechmann V.H.(1884).** Novel synthesis of coumarins. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* 17:929-936.

Références bibliographiques

- [64] **John, E.V.O.; Israelstam S.S (1961)**. Use of cation exchange resins in organic reactions. I. The von Pechmann reaction. *J Org Chem*. 26:240–242.
- [65] **Hoefnagel A.J., Gunnewegh E.A., Dowing R.S., Von Bikkum H. (1995)**. *J Chem Soc Chem Commun* 225.
- [66] **Woods LL, Sapp J (1962)**. New one-step synthesis of substituted coumarins. *J Org Chem* .27:3703-3705.
- [67] **Simmonis H, Remmert P (1914)**. New flavone synthesis .*Chem Ber* 47:2229-2233
- [68] **Robertson A, Sandrock W.F, Henry C.B (1931)**. Acidic Catalysts for Pechmann condensation. *J Chem Soc*. 2426.
- [69] **Sethna SM, Shah Nm, Shah RC (1938)**. Aluminium chloride, a new reagent for the condensation of β -ketonic esters with phenols. Part I. The condensations of methyl β -resorcylic acid, β -resorcylic acid, and resacetophenone with ethyl acetoacetate .*J Chem Soc*.228-232
- [70] **Chavan Sp, Shivasankar K, Sivappa R, kale R (2002)**. Zinc mediated transesterification of β -ketoesters and coumarin synthesis .*Tetrahedron Lett* .43:8583-8586
- [71] **Bose D.S, Rudradas A.P, Babu M.H (2002)**. The indium(III) chloride–catalyzed von Pechmann reaction: A simple and effective procedure for the synthesis of 4-substituted coumarins. *Tetrahedron Lett*.43:9195-9198.
- [72] **Kadnikov D.V, Larock R.C (2000)**. Synthesis of Coumarins via Palladium-Catalyzed Carbonylative Annulation of Internal Alkynes by *o*-Iodophenols. *Org Lett* .2:3643-3646
- [73] **Yadav JS, Chand PK, Anjaneyulu S (2002)**. Iodine-catalyzed al-lyction of aldehydes with trimethylsilane. *Tetrahedron Lett* .43:3783-3784
- [74] **Periana R.A, Mirinov O, Taube D.J, Gamble S (2002)**. High Yield Conversion of Methane to Methyl bisulfate Catalyzed by Iodine Cations. *J Chem Soc Chem Commun* .20:2376-2377
- [75] **Firouzabadi H, Iranpoor N, Sobhani S (2002)** .A high yielding preparation of α –trimethylsilyloxyphosphonates by silylation of α -hydroxyphosphonates with HMDS catalyzed by iodine. *Tetrahedron Lett* .43:3653-3655
- [76] **Firouzabadi H, Iranpoor N, Hazarkhani H (2001)**. Iodine Catalyzes Efficient and Chemoselective Thioacetalization of Carbonyl Functions, Transthioacetalization of O,O-, S,O-Acetals And Acylals . *J Org Chem*.66:7527

Références bibliographiques

[77] **Dipak Prajapati, ukut gohain (2007)**. Iodine a Simple, Effective and Inexpensive Catalyst for the Synthesis of Substituted Coumarins. *Catal lett.* 119:59-63

[78] **Agnieszka.Z, Lech S.(2005)**. Eco-friendly oxidative iodination of various arenes with sodium percarbonate as the oxidant. *Molecules.* 10 :1307-1317.

[79] **Ganguly N.C., Barik S.K., Dutta S.(2010)**. Ecofriendly iodination of activated aromatics and coumarins using potassium iodide and ammonium peroxydisulfate. *Synthesis.* 9: 1467-1472.

[80] **Ardisson V., Mathieu J.P., Ghezzi C., Fagret D.(2005)**. TEMP: les possibilités de marquage à l'iode 123 ou au technétium. *Médecine Nucléaire - Imagerie fonctionnelle et métabolique.* 29(4) :168-178.

[81] **Sallam Kh.M., Mehany N.L.(2009)**. Comparison study between direct and indirect labeling of estradiol for radioimmunoassay purpose. *J Radioanal Nucl Chem.* 281:329-337.

[82] **Lokhande P., Hasanzadeh K., Konda S.G.(2011)**. A novel and efficient approach for the synthesis of new halo substituted 2-arylpyrazolo[4,3-c] coumarin derivatives. *European Journal of Chemistry.* 2 : 223-228.

[83] **Suresh T., Arunima V., Atin K, Sandeep G., Prarthana V. R., Ganesh R. K.(2010)**. Novel chromeneimidazole derivatives as antifungal compounds: synthesis and *in vitro* evaluation. *Acta Poloniae Pharmaceutica- Drug Research.* 67:423-427.

[84] **Russell, A.; Frye, J.R. (1955)**. *Org. Synth. Coll.* Vol.3, p 281.

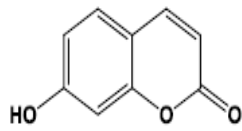
Nétographie

@1- www.greyc.ensicaen.fr/~mbrun/1A_MCF_PROJETS/.../Projet.html

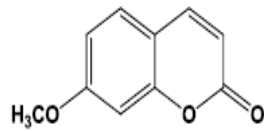
@2- fr.wikipedia.org/wiki/Substitution_électrophile_aromatique

@3- www8.umoncton.ca/umcm-gauthier_didier/siitub/radioisotope.html

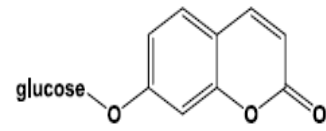
ANNEXES



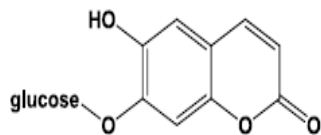
umbelliférone



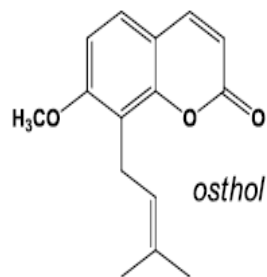
herniarine



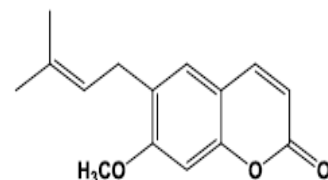
skimmine



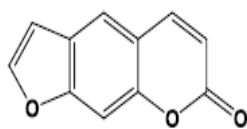
cichoriine



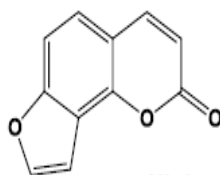
osthol



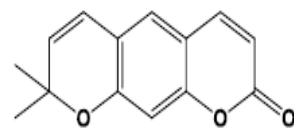
subérosine



psoralène



angélicine



xanthylétine

Exemples de dérivés coumariniques d'origine végétale

Tableau des propriétés chimiques des dérivés coumariniques étudiés

Composés	Formule moléculaire	Poids moléculaire (g/mole)	Point de fusion (°C)	Synonyme	Exemple d'utilisation
A	$C_{10}H_5NO_2$	171.15	184-188	3-Cyanocoumarine	Synthèse de céphalosporines
B	$C_{10}H_6O_4$	190.15	189-192	3-Carboxycoumarine	Fluorophore
C	$C_{10}H_8O_3$	176.17	185-187	4-Methylumbelliféron	Standard fluorométrique pour la détermination de l'activité enzymatique
D	$C_{10}H_5NO_3$	187.15	≥ 250	3-Cyanoumbelliféron	Fluorophore
E	$C_{10}H_6O_5$	206.15	261	7-Hydroxycoumarine-3-acide carboxylique	Indicateur de pH

Les 12 principes de la chimie verte

1. Prévention : il vaut mieux produire moins de déchets qu'investir dans l'assainissement ou l'élimination des déchets.
2. L'économie d'atomes : les synthèses doivent être conçues dans le but de maximiser l'incorporation des matériaux utilisés au cours du procédé dans le produit final.
3. Lorsque c'est possible, les méthodes de synthèse doivent être conçues pour utiliser et créer des substances faiblement ou non toxiques pour les humains et sans conséquences sur l'environnement.
4. Les produits chimiques doivent être conçus de manière à remplir leur fonction primaire tout en minimisant leur toxicité.
5. Lorsque c'est possible, il faut supprimer l'utilisation de substances auxiliaires (solvants, agents de séparation...) ou utiliser des substances inoffensives. Des méthodes non conventionnelles d'activation peuvent être utilisées : l'utilisation de l'eau comme solvant, utilisation de fluides supercritiques, chauffage par micro-ondes, remplacement par des liquides ioniques, ...
6. Les besoins énergétiques des procédés chimiques ont des répercussions sur l'économie et l'environnement dont il faut tenir compte et qu'il faut minimiser. Il faut mettre au point des méthodes de synthèse dans les conditions de température et de pression ambiantes.
7. Lorsque la technologie et les moyens financiers le permettent, les matières premières utilisées doivent être renouvelables plutôt que non renouvelables.
8. Lorsque c'est possible, toute déviation inutile du schéma de synthèse (utilisation d'agents bloquants, protection/déprotection, modification temporaire du procédé physique/chimique) doit être réduite ou éliminée.
9. Les réactifs catalytiques sont plus efficaces que les réactifs stœchiométriques. Il faut favoriser l'utilisation de réactifs catalytiques les plus sélectifs possibles.
10. Les produits chimiques doivent être conçus de façon à pouvoir se dissocier en produits de dégradation non nocifs à la fin de leur durée d'utilisation, cela dans le but d'éviter leur persistance dans l'environnement.
11. Des méthodologies analytiques doivent être élaborées afin de permettre une surveillance et un contrôle en temps réel et en cours de production avant qu'il y ait apparition de substances dangereuses.
12. Les substances et la forme des substances utilisées dans un procédé chimique devraient être choisies de façon à minimiser les risques d'accidents chimiques, incluant les rejets, les explosions et les incendies.

Calcul de l'activité d'un gramme d'iode 125

A : activité

 λ =constante radioactive

T= période ou demi-vie physique (iode 60 jours)

N=nombre d'atome

 N_A = nombre d'Avogadro

M=masse molaire

$$A = \lambda \times N \quad \lambda = \ln 2 / T$$

$$\lambda = 0.693 / 60 \times 24 \times 3600 = 1.34 \times 10^{-7} \text{ s}^{-1}$$

$$m = M \times N / N_A \quad N = N_A \times m / M$$

si m=1g

$$N = N_A / M = 6.02 \times 10^{23} / 125 = 4.81 \times 10^{21}$$

donc l'activité d'un gramme d'iode :

$$A = 1.34 \times 10^{-7} \times 4.81 \times 10^{21} = \mathbf{6.44 \times 10^{14} \text{ Bq}}$$

Donc 1g d'iode a une activité de 6.44×10^{14} BqSi $A = 1.85 \times 10^7$ Bq ou 0.5mCi donc la quantité en gramme d'iode = 2.872×10^{-8} g

En mole :

$$1 \text{ mole} \longrightarrow 125 \text{ g}$$

$$X \longrightarrow 2.872 \times 10^{-8}$$

$$\mathbf{X = 2.3 \times 10^{-10} \text{ mole ou } 0.23 \times 10^{-11} \text{ mole}}$$

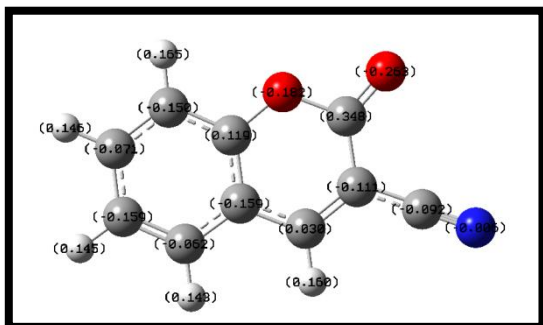
Ratio de mole :

$$\text{Composé C} = 2 \times 10^{-6} \text{ mole}$$

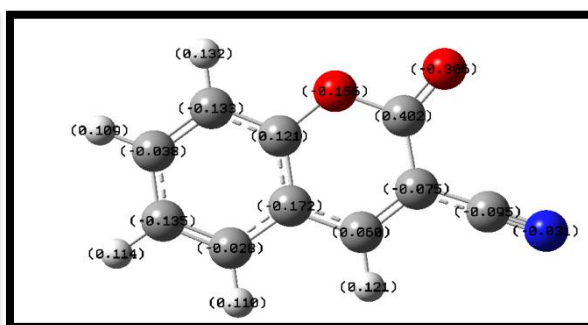
$$\text{Iode 125} = 0.23 \text{ nmole}$$

$$\text{Ratio} = \text{n.de mole du composé C} / \text{n.nombre de mole d'iode} = 1 : 0.000115$$

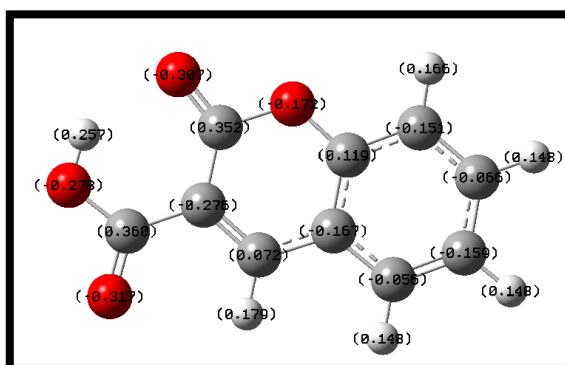
Annexe 5



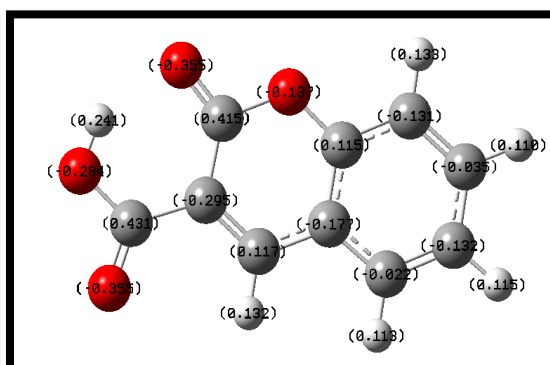
Composé A méthode AM1



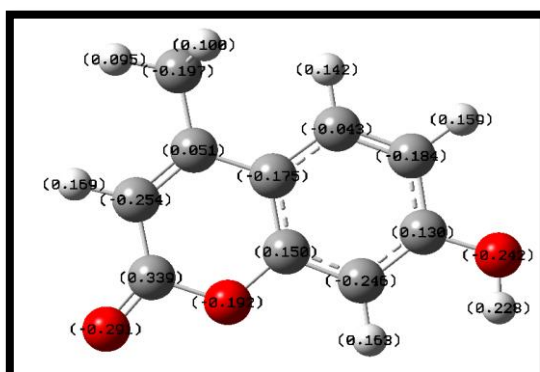
Composé A méthode PM3



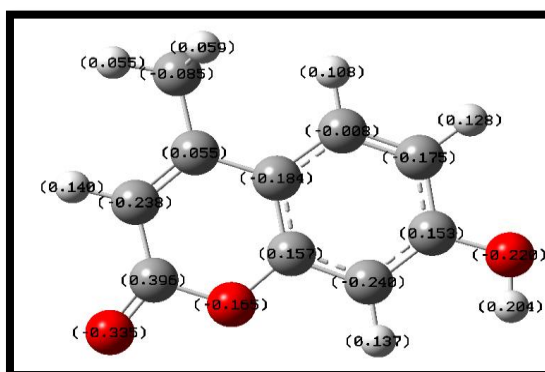
Composé B méthode AM1



Composé B méthode PM3

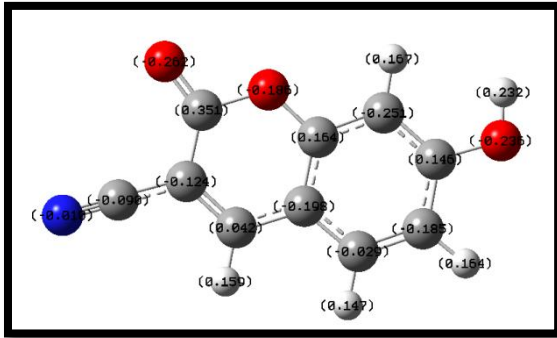


Composé C méthode AM1

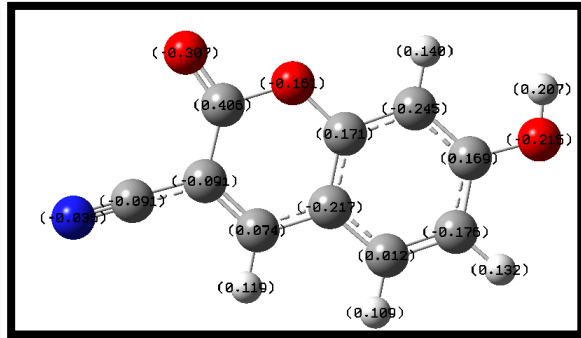


Composé C méthode PM3

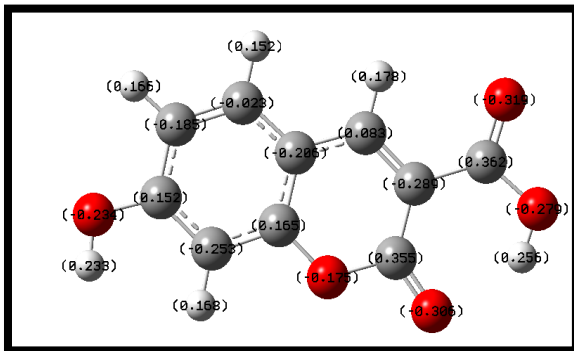
Annexe 5



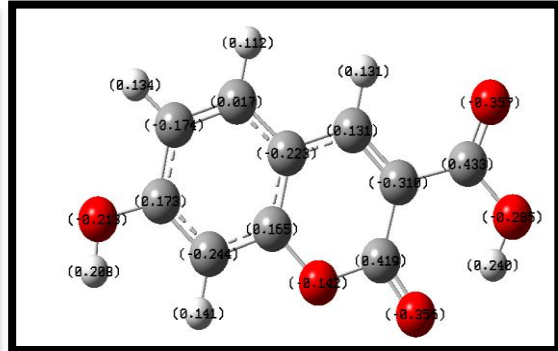
Composé D méthode AM1



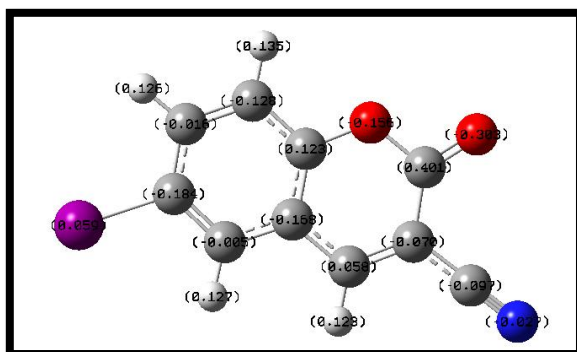
Composé D méthode PM3



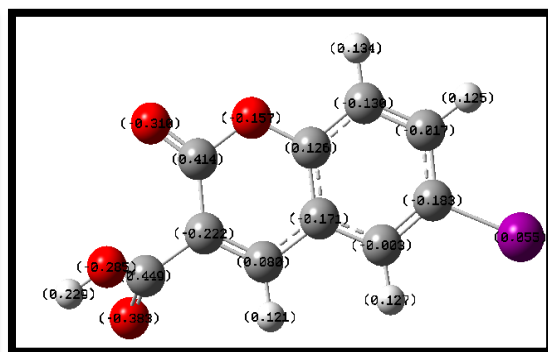
Composé E méthode AM1



Composé E méthode PM3

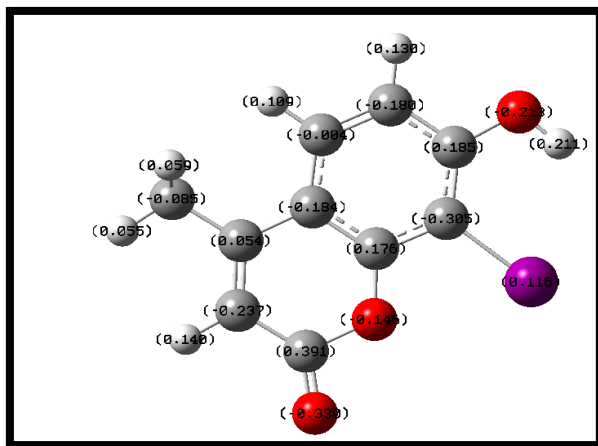


Répartition des charges du composé A
iodé en C6 méthode PM3

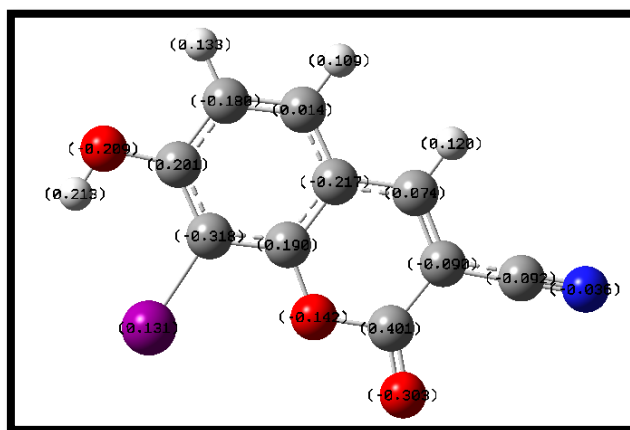


Répartition des charges du composé B
iodé en C6 méthode PM3

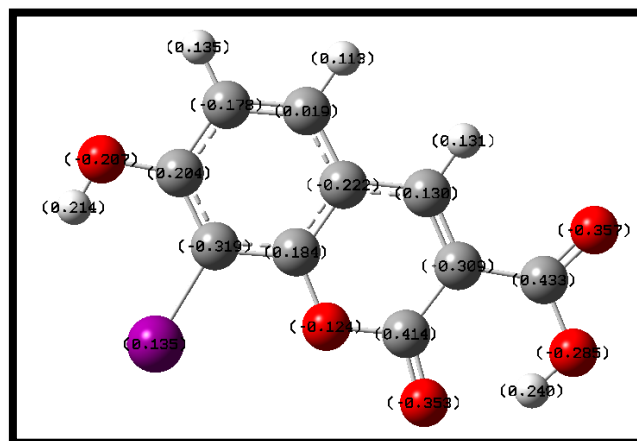
Annexe 5



Répartition des charges du composé C iodé en C8 méthode PM3

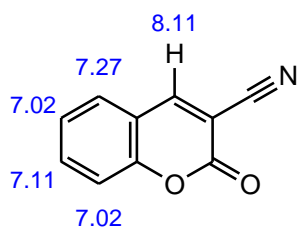


Répartition des charges du composé D iodé en C8 méthode PM3

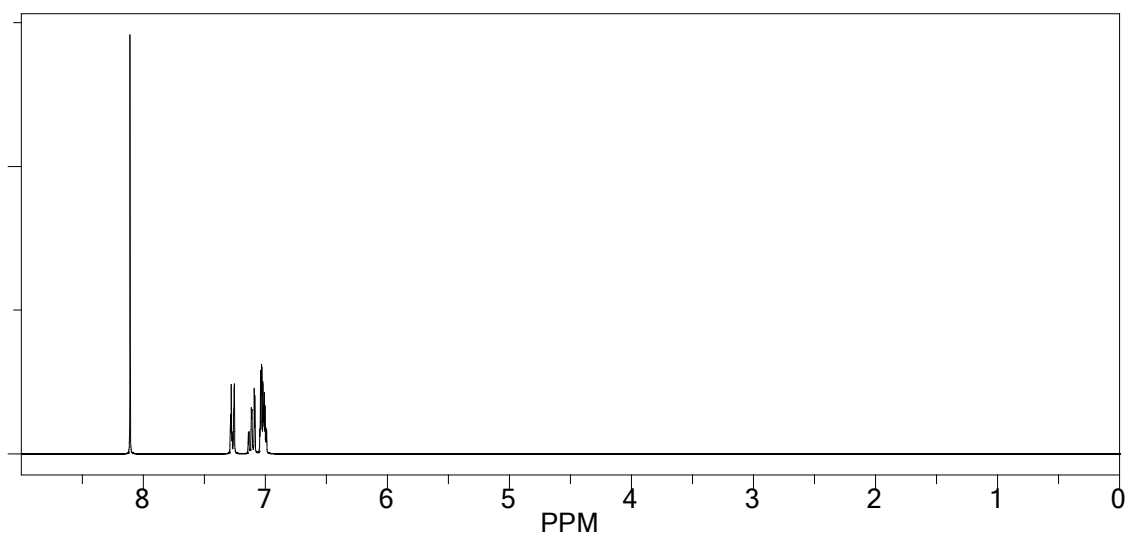


Répartition des charges du composé E iodé en C8 méthode PM3

ChemNMR H-1 Estimation



Estimation Quality: blue = good, magenta = medium, red = rough

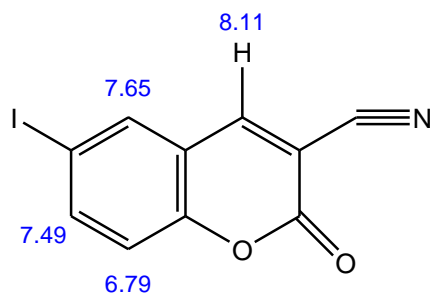


Protocol of the H-1 NMR Prediction:

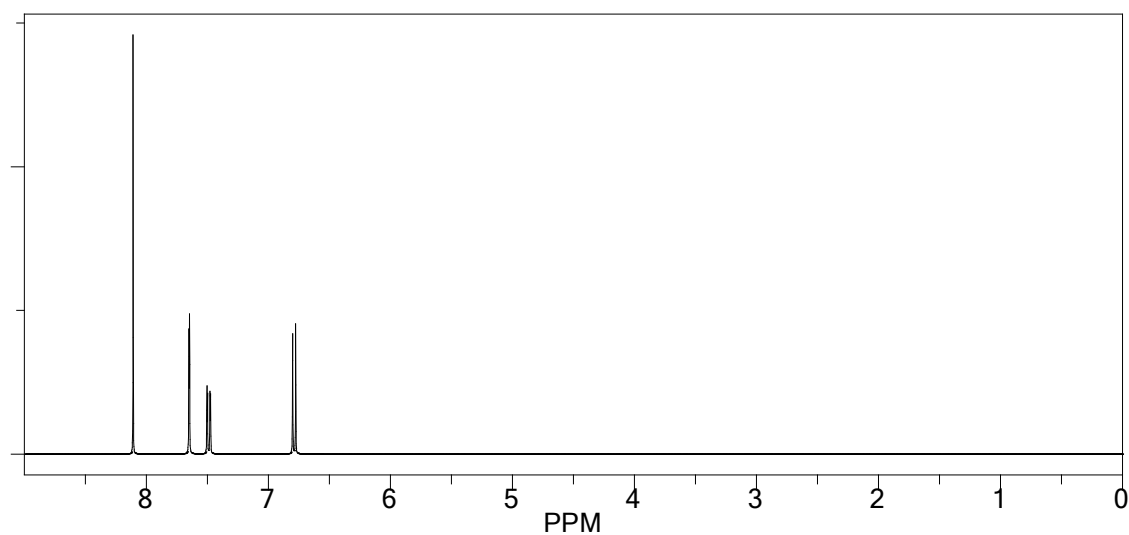
Node	Shift	Base + Inc.	Comment (ppm rel. to TMS)
CH	7.27	7.26	1-benzene
		0.04	1 -C=C
		-0.03	1 -OC(=O)
CH	7.02	7.26	1-benzene
		-0.05	1 -C=C
		-0.19	1 -OC(=O)
CH	7.02	7.26	1-benzene
		-0.05	1 -C=C
		-0.19	1 -OC(=O)
CH	7.11	7.26	1-benzene
		-0.12	1 -C=C
		-0.03	1 -OC(=O)
H	8.11	5.25	1-ethylene
		0.75	1 -C+N cis
		0.46	1 -C(=O)O-R trans
		1.65	1 -1:C*(R)*C*(R)*C*(R)*C*(R)*1 gem

Estimation du spectre RMN du proton du composé A

ChemNMR H-1 Estimation



Estimation Quality: blue = good, magenta = medium, red = rough

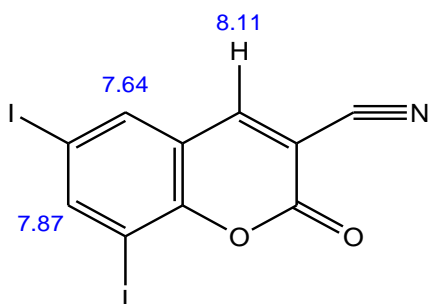


Protocol of the H-1 NMR Prediction:

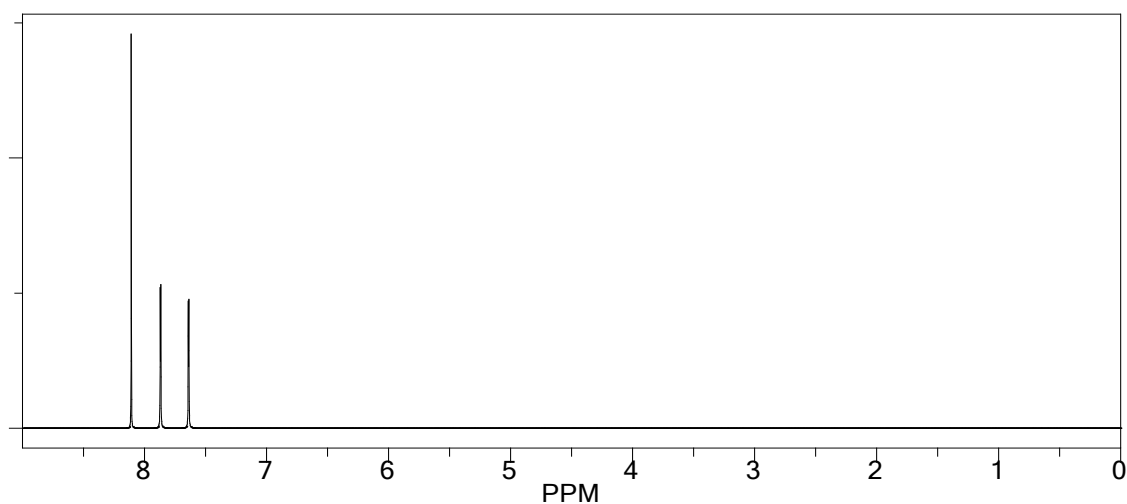
Node	Shift	Base + Inc.	Comment (ppm rel. to TMS)
CH	7.49	7.26	1-benzene
		0.38	1 -I
		-0.03	1 -OC(=O)
		-0.12	1 -C=C
CH	6.79	7.26	1-benzene
		-0.23	1 -I
		-0.19	1 -OC(=O)
		-0.05	1 -C=C
CH	7.65	7.26	1-benzene
		0.38	1 -I
		-0.03	1 -OC(=O)
		0.04	1 -C=C
H	8.11	5.25	1-ethylene
		0.75	1 -C+N cis
		0.46	1 -C(=O)O-R trans
		1.65	1 -1:C*(R)*C*(R)*C*(R)*C*(R)*1 gem

Estimation du spectre RMN du proton du composé A iodé en C6

ChemNMR H-1 Estimation



Estimation Quality: blue = good, magenta = medium, red = rough

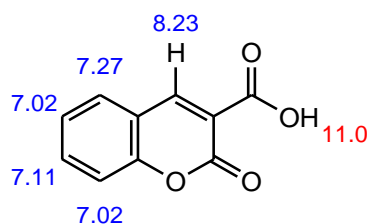


Protocol of the H-1 NMR Prediction:

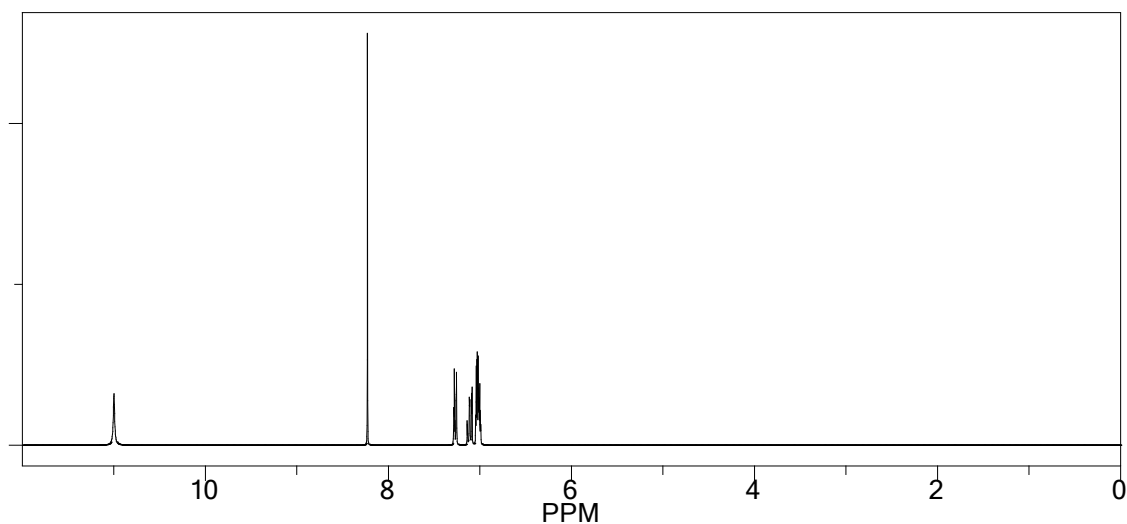
Node	Shift	Base + Inc.	Comment (ppm rel. to TMS)
CH	7.87	7.26	1-benzene
		0.38	1 -I
		0.38	1 -I
		-0.03	1 -OC(=O)
		-0.12	1 -C=C
CH	7.64	7.26	1-benzene
		0.38	1 -I
		-0.01	1 -I
		-0.03	1 -OC(=O)
		0.04	1 -C=C
H	8.11	5.25	1-ethylene
		0.75	1 -C+N cis
		0.46	1 -C(=O)O-R trans
		1.65	1 -1:C*(R)*C*(R)*C*(R)*C*(R)*1 gem

Estimation du spectre RMN du proton du composé A di-iodé en C6 et C8

ChemNMR H-1 Estimation



Estimation Quality: blue = good, magenta = medium, red = rough

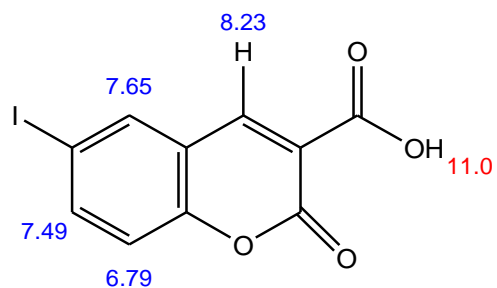


Protocol of the H-1 NMR Prediction:

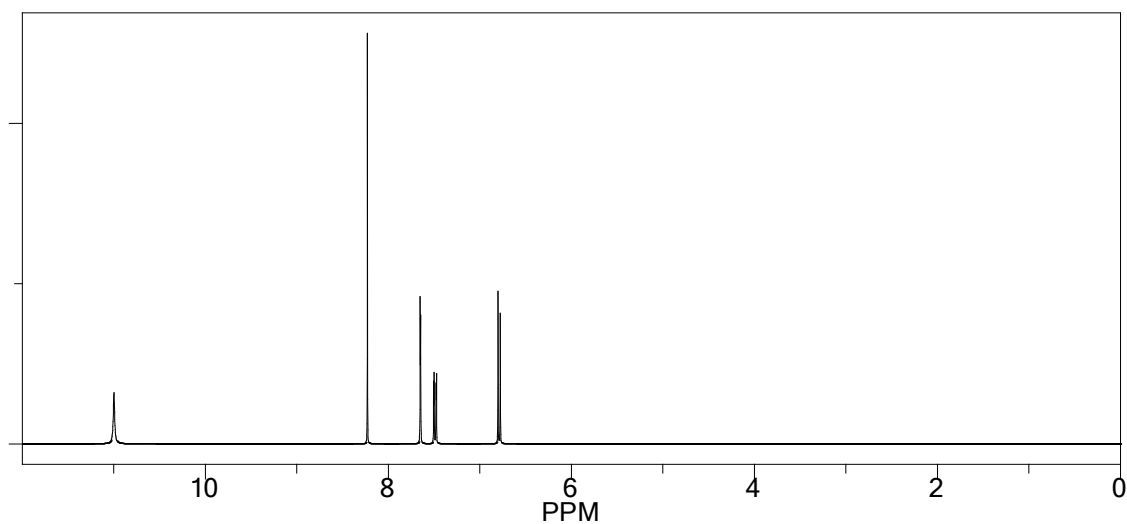
Node	Shift	Base + Inc.	Comment (ppm rel. to TMS)
CH	7.27	7.26	1-benzene
		0.04	1 -C=C
		-0.03	1 -OC(=O)
CH	7.02	7.26	1-benzene
		-0.05	1 -C=C
		-0.19	1 -OC(=O)
CH	7.02	7.26	1-benzene
		-0.05	1 -C=C
		-0.19	1 -OC(=O)
CH	7.11	7.26	1-benzene
		-0.12	1 -C=C
		-0.03	1 -OC(=O)
OH	11.0	11.00	carboxylic acid
H	8.23	5.25	1-ethylene
		1.01	1 -C(=O)O-R cis
		0.32	1 -C(=O)O trans
		1.65	1 -1:C*(R)*C*(R)*C*(R)*C*(R)*1 gem

Estimation du spectre RMN du proton du composé B

ChemNMR H-1 Estimation



Estimation Quality: blue = good, magenta = medium, red = rough

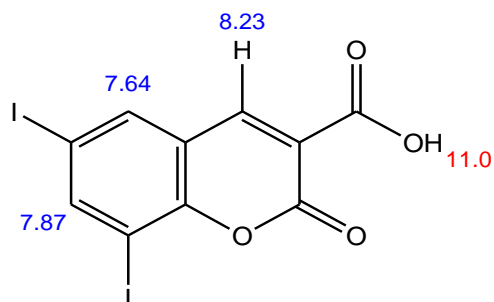


Protocol of the H-1 NMR Prediction:

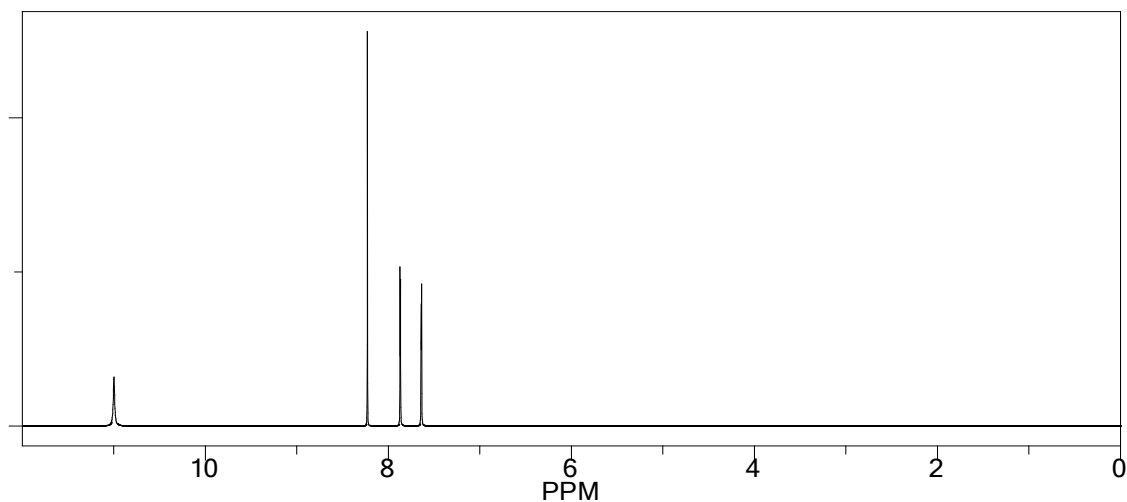
Node	Shift	Base + Inc.	Comment (ppm rel. to TMS)
CH	7.49	7.26	1-benzene
		0.38	1 -I
		-0.03	1 -OC(=O)
		-0.12	1 -C=C
CH	6.79	7.26	1-benzene
		-0.23	1 -I
		-0.19	1 -OC(=O)
		-0.05	1 -C=C
CH	7.65	7.26	1-benzene
		0.38	1 -I
		-0.03	1 -OC(=O)
		0.04	1 -C=C
OH	11.0	11.00	carboxylic acid
H	8.23	5.25	1-ethylene
		1.01	1 -C(=O)O-R cis
		0.32	1 -C(=O)O trans
		1.65	1 -1:C*(R)*C*C*C*1 gem

Estimation du spectre RMN du proton du composé B iodé en C6

ChemNMR H-1 Estimation



Estimation Quality: blue = good, magenta = medium, red = rough

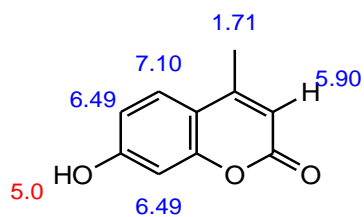


Protocol of the H-1 NMR Prediction:

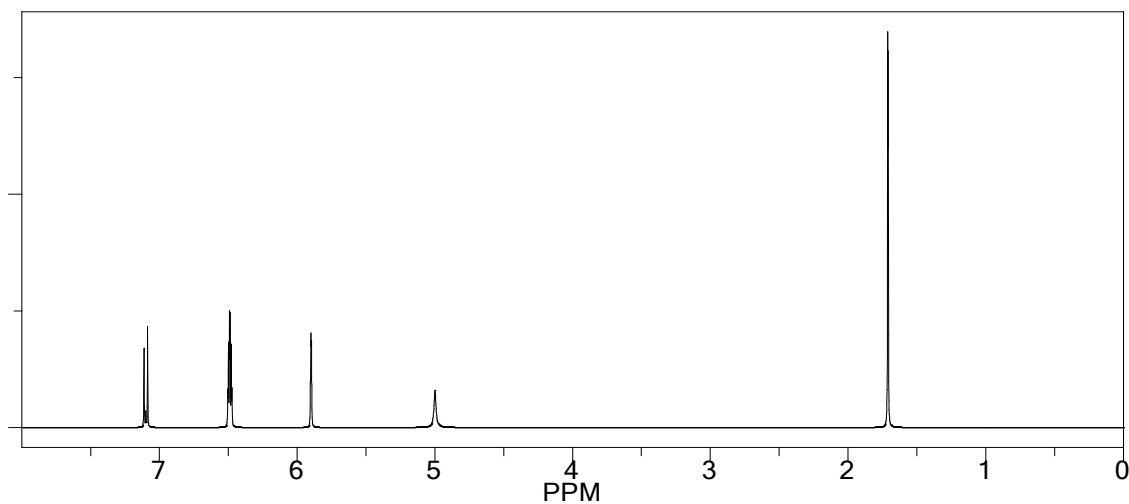
Node	Shift	Base + Inc.	Comment (ppm rel. to TMS)
CH	7.87	7.26	1-benzene
		0.38	1 -I
		0.38	1 -I
		-0.03	1 -OC(=O)
		-0.12	1 -C=C
CH	7.64	7.26	1-benzene
		0.38	1 -I
		-0.01	1 -I
		-0.03	1 -OC(=O)
		0.04	1 -C=C
OH	11.0	11.00	carboxylic acid
H	8.23	5.25	1-ethylene
		1.01	1 -C(=O)O-R cis
		0.32	1 -C(=O)O trans
		1.65	1 -1:C*(R)*C*(R)*C*(R)*C*(R)*1 gem

Estimation du spectre RMN du proton du composé B di-iodé en C6 et C8

ChemNMR H-1 Estimation



Estimation Quality: blue = good, magenta = medium, red = rough

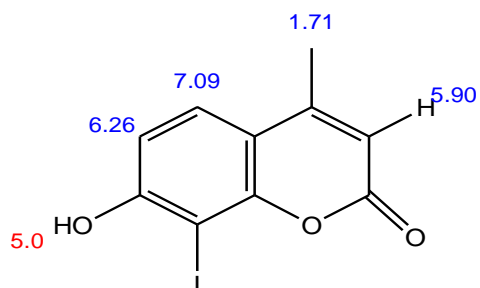


Protocol of the H-1 NMR Prediction:

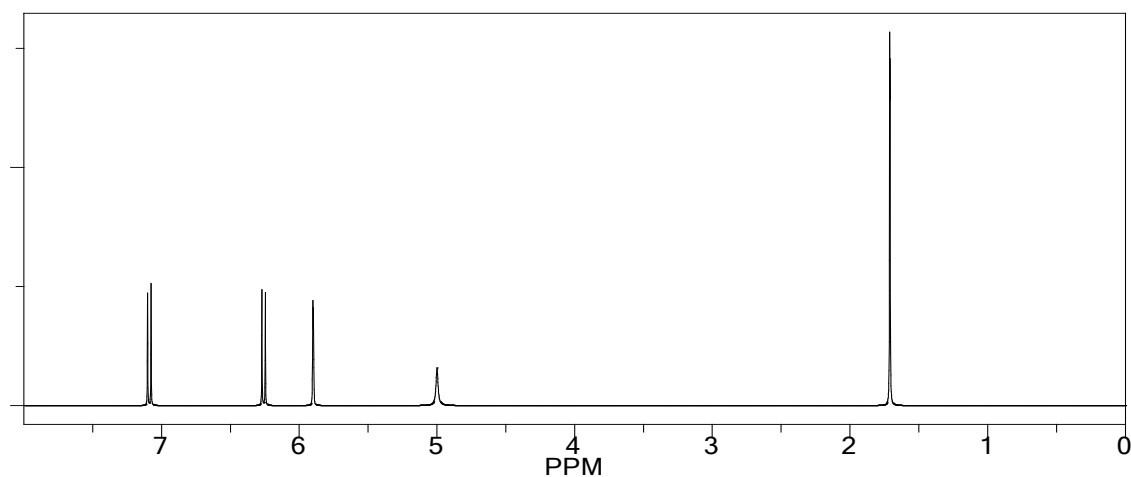
Node	Shift	Base + Inc.	Comment (ppm rel. to TMS)
CH	7.10	7.26	1-benzene
		0.04	1 -C=C
		-0.03	1 -OC(=O)
		-0.17	1 -O
CH	6.49	7.26	1-benzene
		-0.05	1 -C=C
		-0.19	1 -OC(=O)
		-0.53	1 -O
CH	6.49	7.26	1-benzene
		-0.05	1 -C=C
		-0.19	1 -OC(=O)
		-0.53	1 -O
OH	5.0	5.00	aromatic C-OH
CH ₃	1.71	0.86	methyl
		0.85	1 alpha -C=C
H	5.90	5.25	1-ethylene
		0.78	1 -C(=O)O-R gem
		0.09	1 -1:C*(R)*C*C*C*C*1 trans
		-0.22	1 -C cis

Estimation du spectre RMN du proton du composé C

ChemNMR H-1 Estimation



Estimation Quality: blue = good, magenta = medium, red = rough

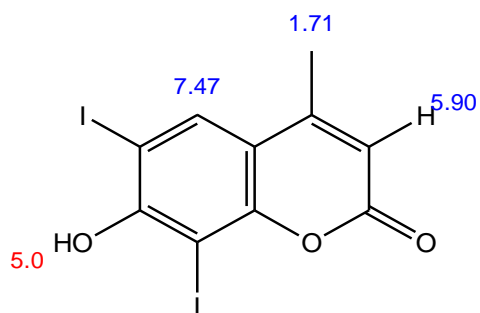


Protocol of the H-1 NMR Prediction:

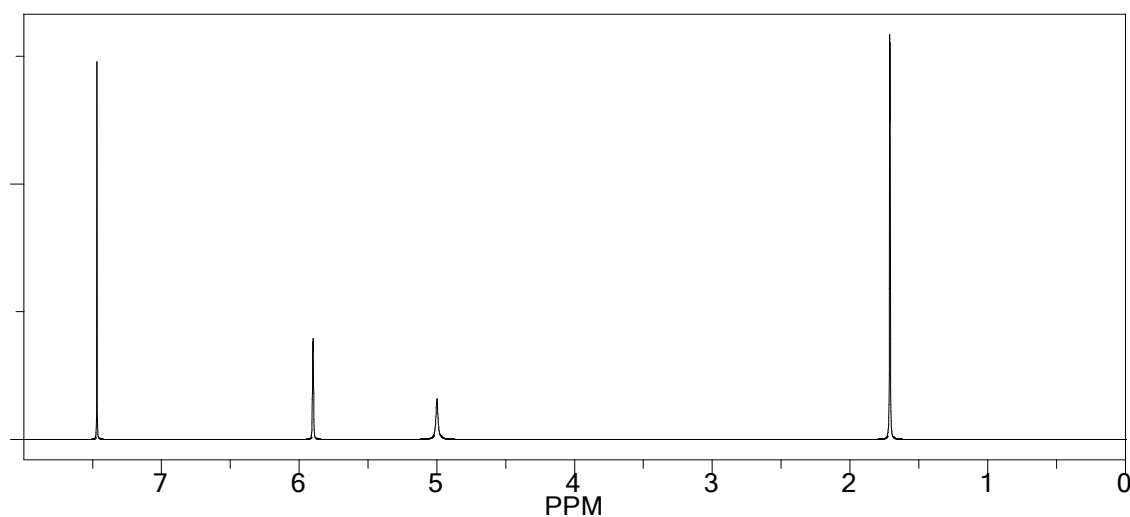
Node	Shift	Base + Inc.	Comment (ppm rel. to TMS)
CH	6.26	7.26	1-benzene
		-0.53	1 -O
		-0.23	1 -I
		-0.19	1 -OC (=O)
		-0.05	1 -C=C
CH	7.09	7.26	1-benzene
		-0.17	1 -O
		-0.01	1 -I
		-0.03	1 -OC (=O)
		0.04	1 -C=C
CH3	1.71	0.86	methyl
		0.85	1 alpha -C=C
OH	5.0	5.00	aromatic C-OH
H	5.90	5.25	1-ethylene
		0.78	1 -C(=O)O-R gem
		0.09	1 -1:C*(R)*C*C*C*1 trans
		-0.22	1 -C cis

Estimation du spectre RMN du proton du composé C iodé en C8

ChemNMR H-1 Estimation



Estimation Quality: blue = good, magenta = medium, red = rough

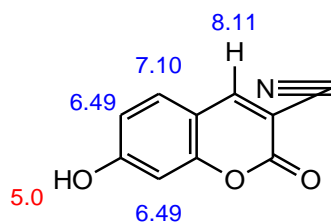


Protocol of the H-1 NMR Prediction:

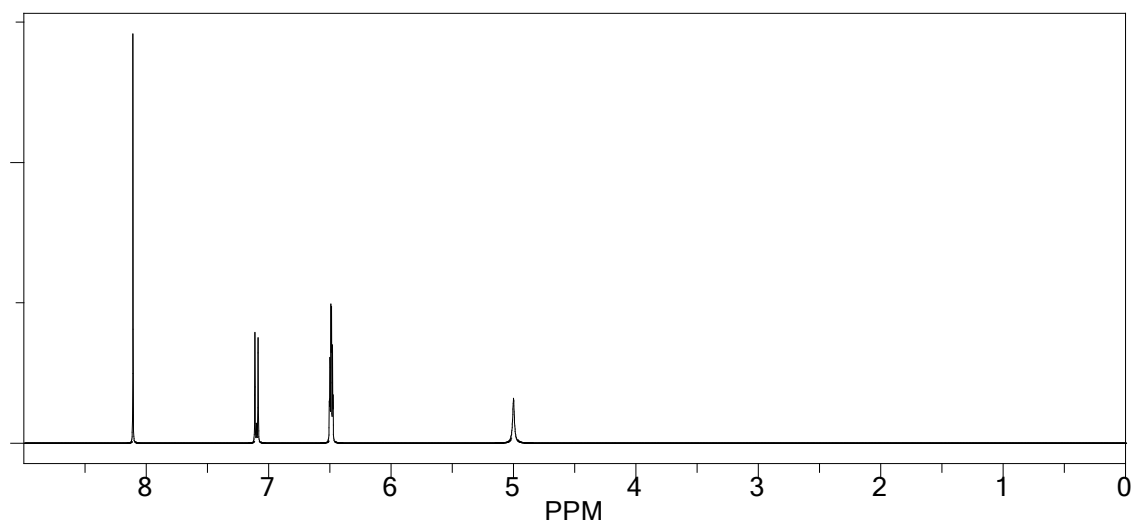
Node	Shift	Base + Inc.	Comment (ppm rel. to TMS)
CH	7.47	7.26	1-benzene
		0.38	1 -I
		-0.17	1 -O
		-0.01	1 -I
		-0.03	1 -OC (=O)
		0.04	1 -C=C
CH3	1.71	0.86	methyl
		0.85	1 alpha -C=C
OH	5.0	5.00	aromatic C-OH
H	5.90	5.25	1-ethylene
		0.78	1 -C(=O)O-R gem
		0.09	1 -1:C*(R)*C*C*C*C*1 trans
		-0.22	1 -C cis

Estimation du spectre RMN du proton du composé C di-iodé en C8 et C6

ChemNMR H-1 Estimation



Estimation Quality: blue = good, magenta = medium, red = rough

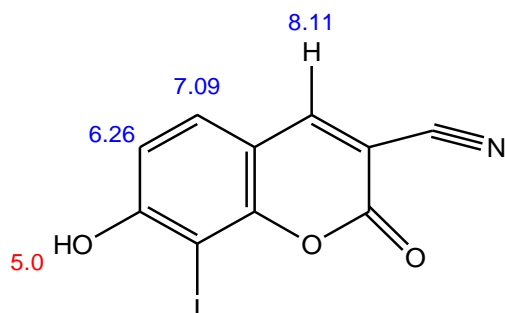


Protocol of the H-1 NMR Prediction:

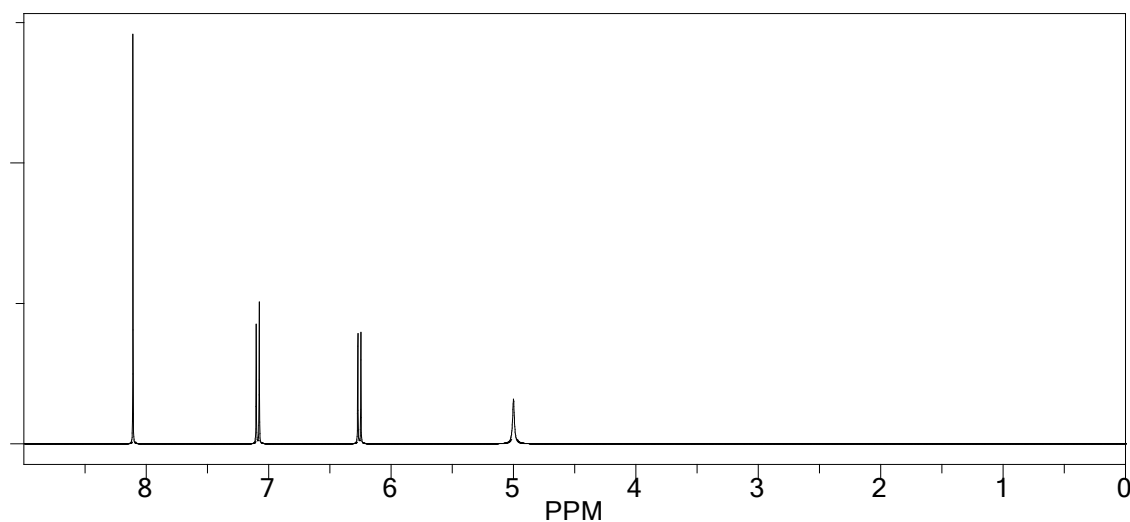
Node	Shift	Base + Inc.	Comment (ppm rel. to TMS)
CH	7.10	7.26	1-benzene
		0.04	1 -C=C
		-0.03	1 -OC(=O)
		-0.17	1 -O
CH	6.49	7.26	1-benzene
		-0.05	1 -C=C
		-0.19	1 -OC(=O)
		-0.53	1 -O
CH	6.49	7.26	1-benzene
		-0.05	1 -C=C
		-0.19	1 -OC(=O)
		-0.53	1 -O
OH	5.0	5.00	aromatic C-OH
H	8.11	5.25	1-ethylene
		0.75	1 -C+N cis
		0.46	1 -C(=O)O-R trans
		1.65	1 -1:C*(R)*C*C*C*C*1 gem

Estimation du spectre RMN du proton du composé D

ChemNMR H-1 Estimation



Estimation Quality: blue = good, magenta = medium, red = rough

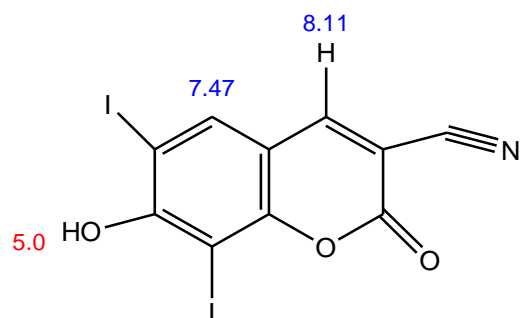


Protocol of the H-1 NMR Prediction:

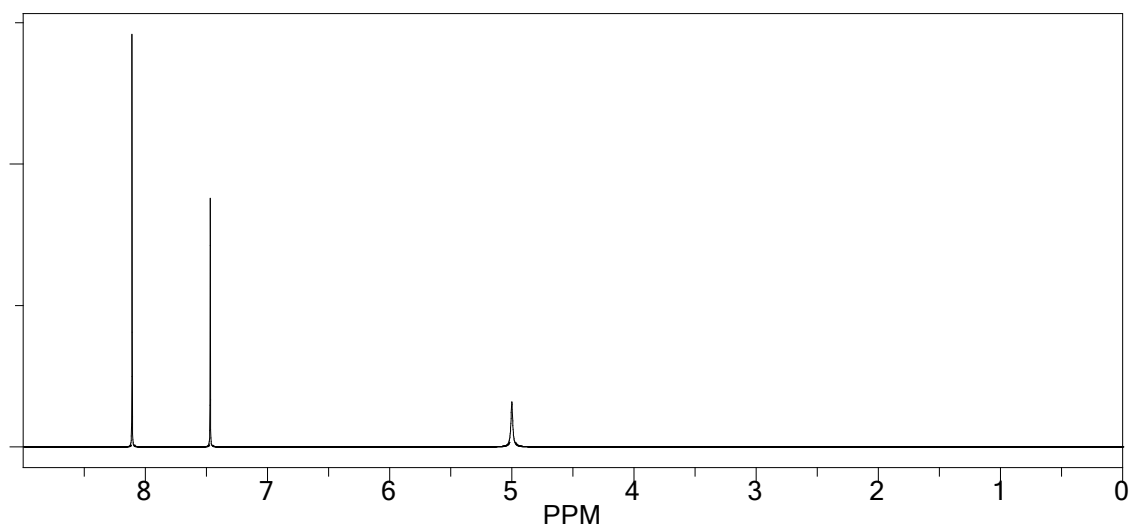
Node	Shift	Base + Inc.	Comment (ppm rel. to TMS)
CH	6.26	7.26	1-benzene
		-0.53	1 -O
		-0.23	1 -I
		-0.19	1 -OC(=O)
		-0.05	1 -C=C
CH	7.09	7.26	1-benzene
		-0.17	1 -O
		-0.01	1 -I
		-0.03	1 -OC(=O)
		0.04	1 -C=C
OH	5.0	5.00	aromatic C-OH
H	8.11	5.25	1-ethylene
		0.75	1 -C+N cis
		0.46	1 -C(=O)O-R trans
		1.65	1 -1:C*(R)*C*C*C*C*1 gem

Estimation du spectre RMN du proton du composé D iodé en C8

ChemNMR H-1 Estimation



Estimation Quality: blue = good, magenta = medium, red = rough

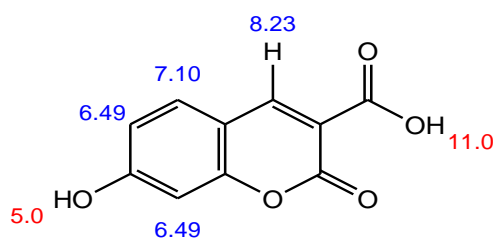


Protocol of the H-1 NMR Prediction:

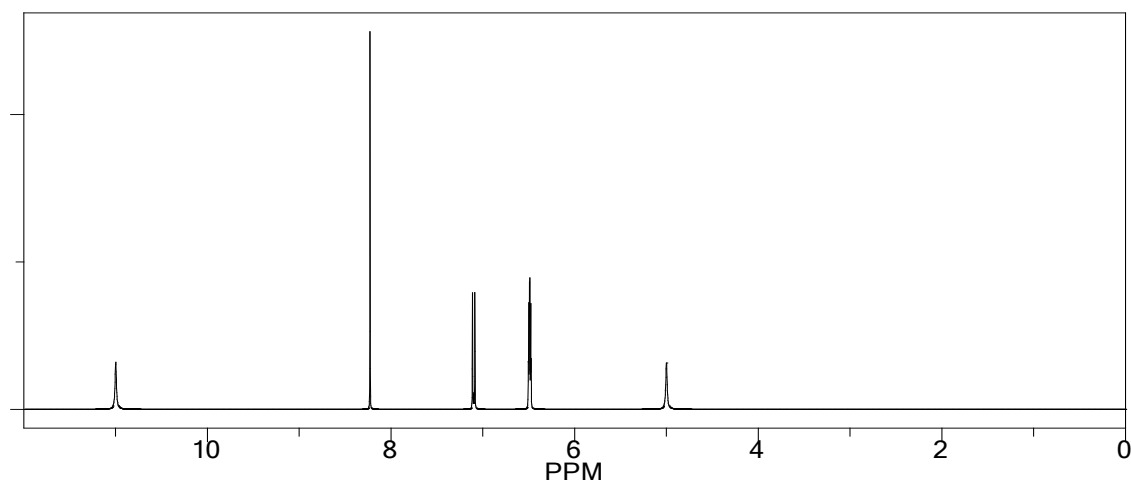
Node	Shift	Base + Inc.	Comment (ppm rel. to TMS)
CH	7.47	7.26	1-benzene
		0.38	1 -I
		-0.17	1 -O
		-0.01	1 -I
		-0.03	1 -OC(=O)
		0.04	1 -C=C
OH	5.0	5.00	aromatic C-OH
H	8.11	5.25	1-ethylene
		0.75	1 -C+N cis
		0.46	1 -C(=O)O-R trans
		1.65	1 -1:C*(R)*C*(R)*C*(R)*C*(R)*1 gem

Estimation du spectre RMN du proton du composé D di-iodé en C8 et C6

ChemNMR H-1 Estimation



Estimation Quality: blue = good, magenta = medium, red = rough

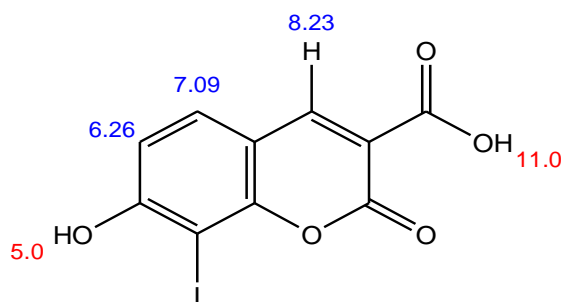


Protocol of the H-1 NMR Prediction:

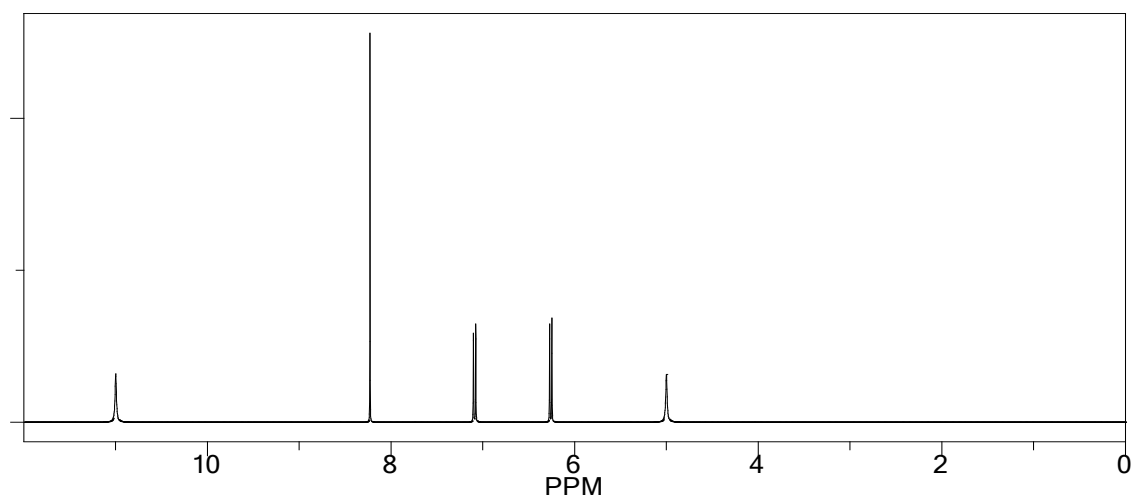
Node	Shift	Base + Inc.	Comment (ppm rel. to TMS)
CH	7.10	7.26	1-benzene
		0.04	1 -C=C
		-0.03	1 -OC(=O)
		-0.17	1 -O
CH	6.49	7.26	1-benzene
		-0.05	1 -C=C
		-0.19	1 -OC(=O)
		-0.53	1 -O
CH	6.49	7.26	1-benzene
		-0.05	1 -C=C
		-0.19	1 -OC(=O)
		-0.53	1 -O
OH	5.0	5.00	aromatic C-OH
OH	11.0	11.00	carboxylic acid
H	8.23	5.25	1-ethylene
		1.01	1 -C(=O)O-R cis
		0.32	1 -C(=O)O trans
		1.65	1 -1:C*(R)*C*(R)*C*(R)*C*(R)*1 gem

Estimation du spectre RMN du proton du composé E

ChemNMR H-1 Estimation



Estimation Quality: blue = good, magenta = medium, red = rough

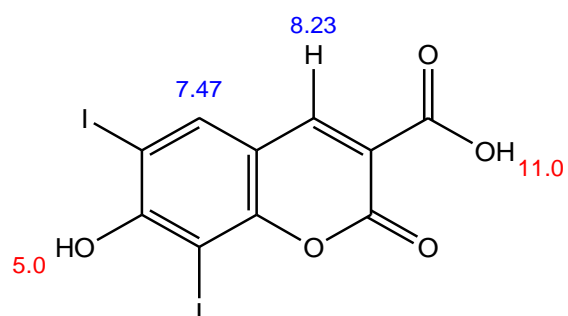


Protocol of the H-1 NMR Prediction:

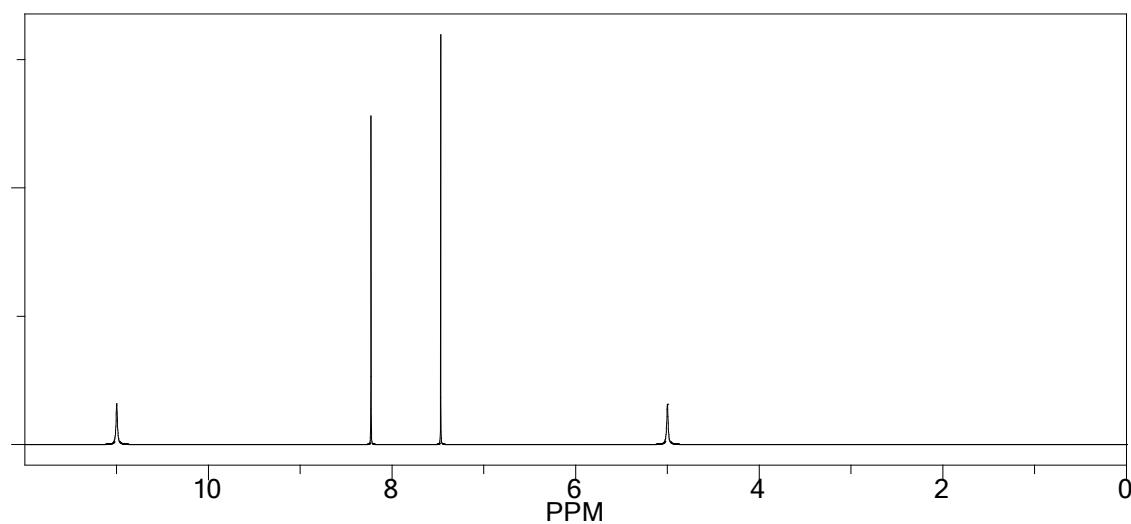
Node	Shift	Base + Inc.	Comment (ppm rel. to TMS)
CH	6.26	7.26	1-benzene
		-0.53	1 -O
		-0.23	1 -I
		-0.19	1 -OC(=O)
		-0.05	1 -C=C
CH	7.09	7.26	1-benzene
		-0.17	1 -O
		-0.01	1 -I
		-0.03	1 -OC(=O)
		0.04	1 -C=C
OH	5.0	5.00	aromatic C-OH
OH	11.0	11.00	carboxylic acid
H	8.23	5.25	1-ethylene
		1.01	1 -C(=O)O-R cis
		0.32	1 -C(=O)O trans
		1.65	1 -1:C*(R)*C*(R)*C*(R)*C*(R)*1 gem

Estimation du spectre RMN du proton du composé E iodé en C8

ChemNMR H-1 Estimation



Estimation Quality: blue = good, magenta = medium, red = rough

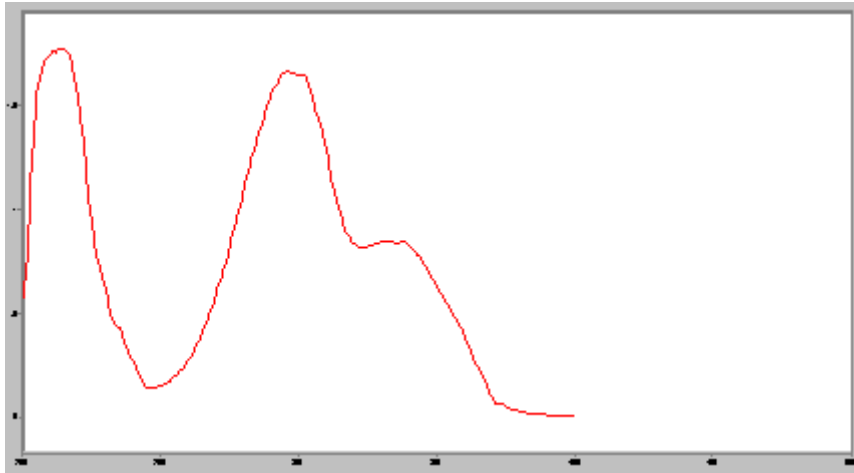


Protocol of the H-1 NMR Prediction:

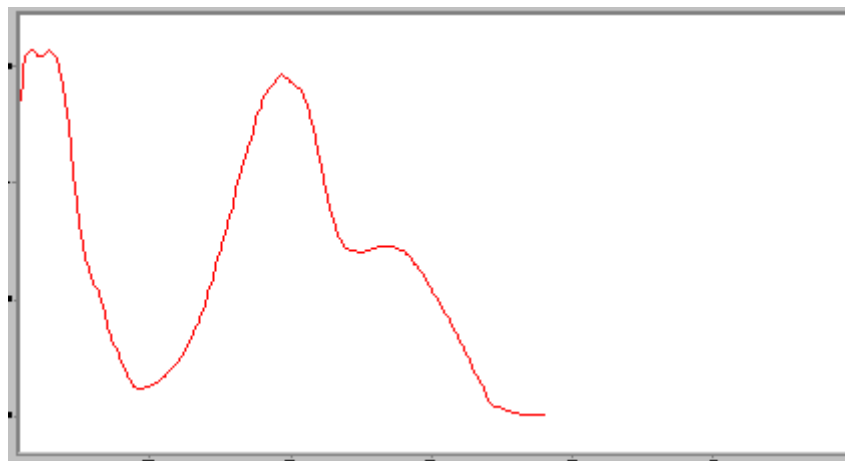
Node	Shift	Base + Inc.	Comment (ppm rel. to TMS)
CH	7.47	7.26	1-benzene
		0.38	1 -I
		-0.17	1 -O
		-0.01	1 -I
		-0.03	1 -OC(=O)
		0.04	1 -C=C
OH	5.0	5.00	aromatic C-OH
OH	11.0	11.00	carboxylic acid
H	8.23	5.25	1-ethylene
		1.01	1 -C(=O)O-R cis
		0.32	1 -C(=O)O trans
		1.65	1 -1:C*(R)*C*C*C*1 gem

Estimation du spectre RMN du proton du composé E di-iodé en C8 et C

Annexe 7

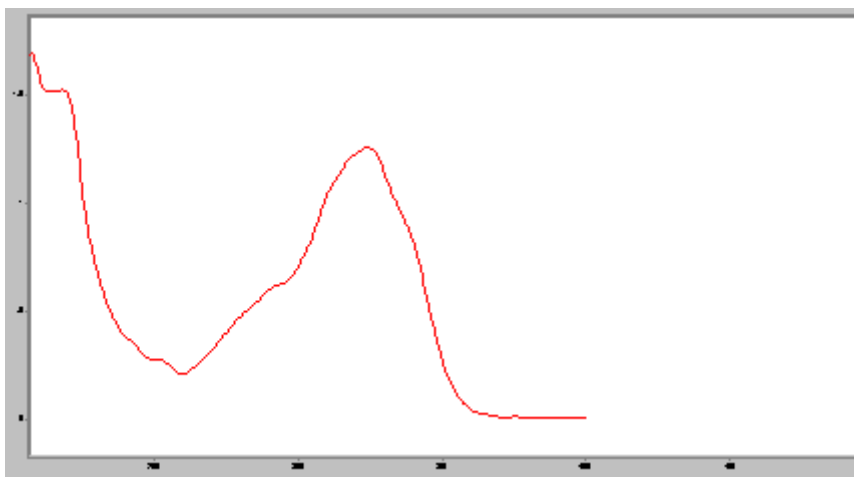


Spectre UV du composé A

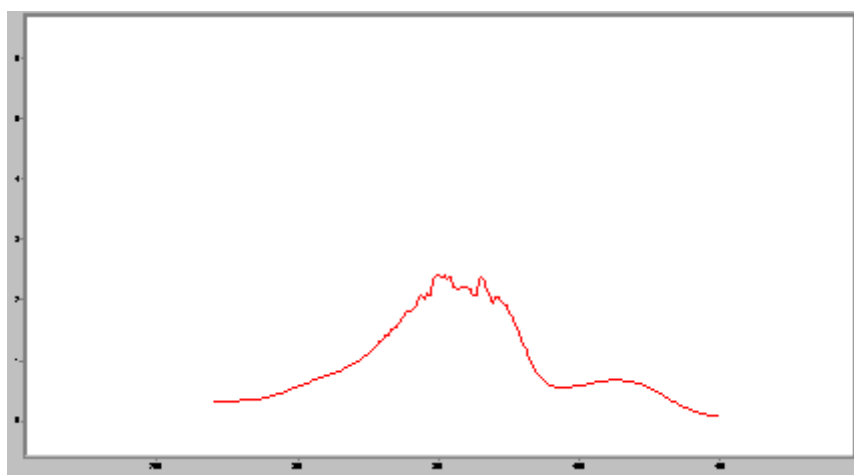


Spectre UV du composé B

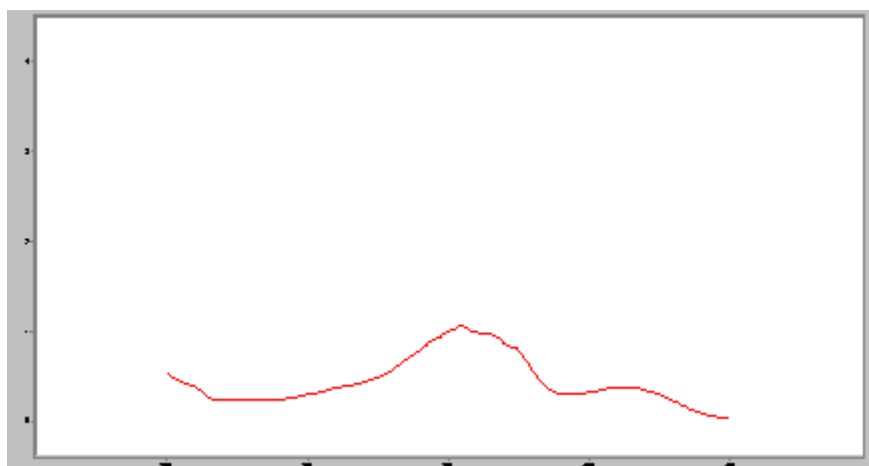
Annexe 7



Spectre UV du composé C

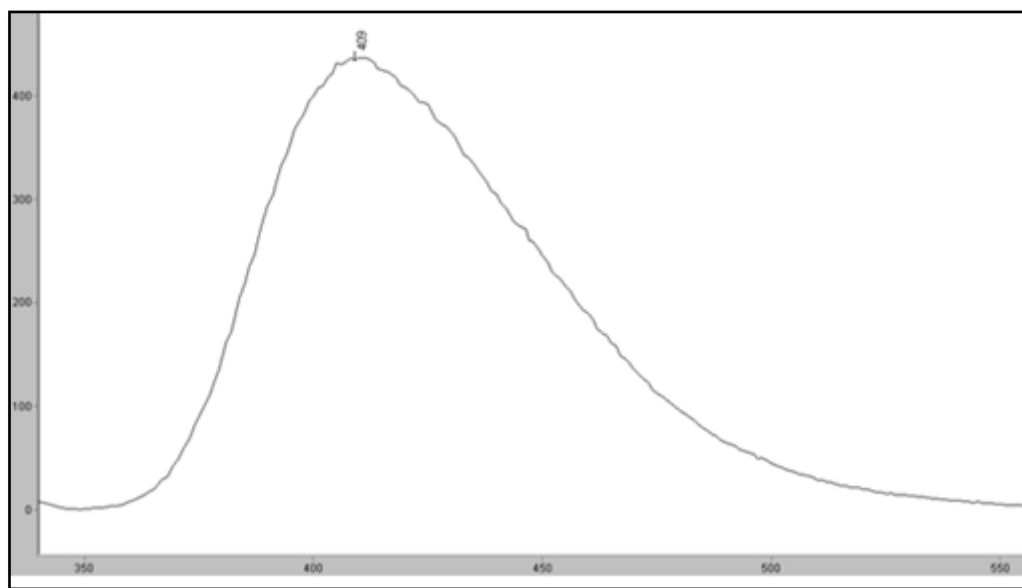


Spectre UV du composé D

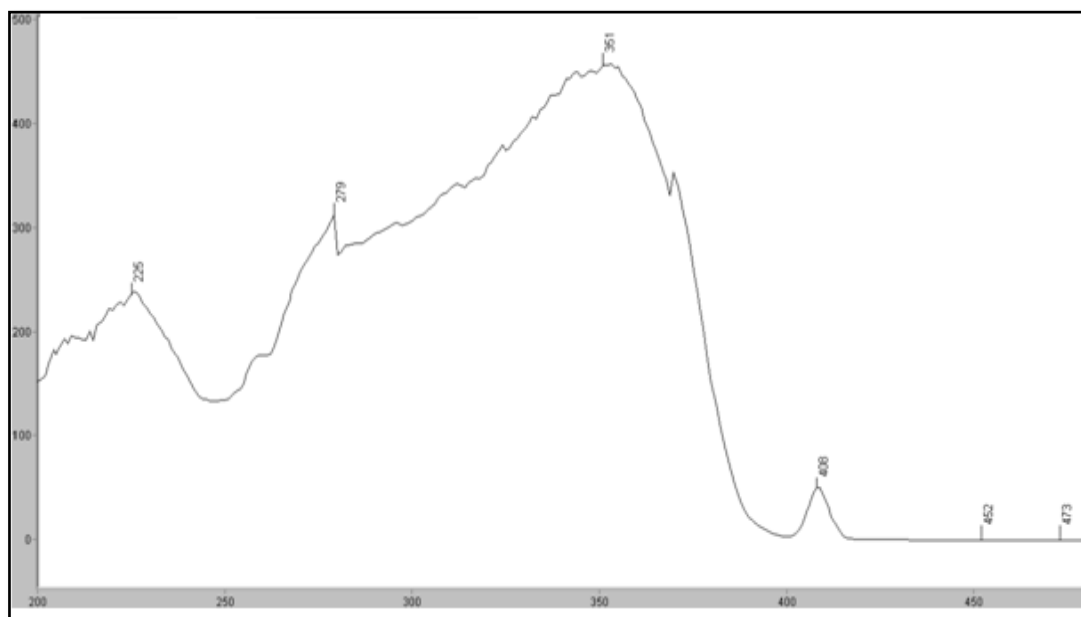


Spectre UV du composé E

Annexe 8

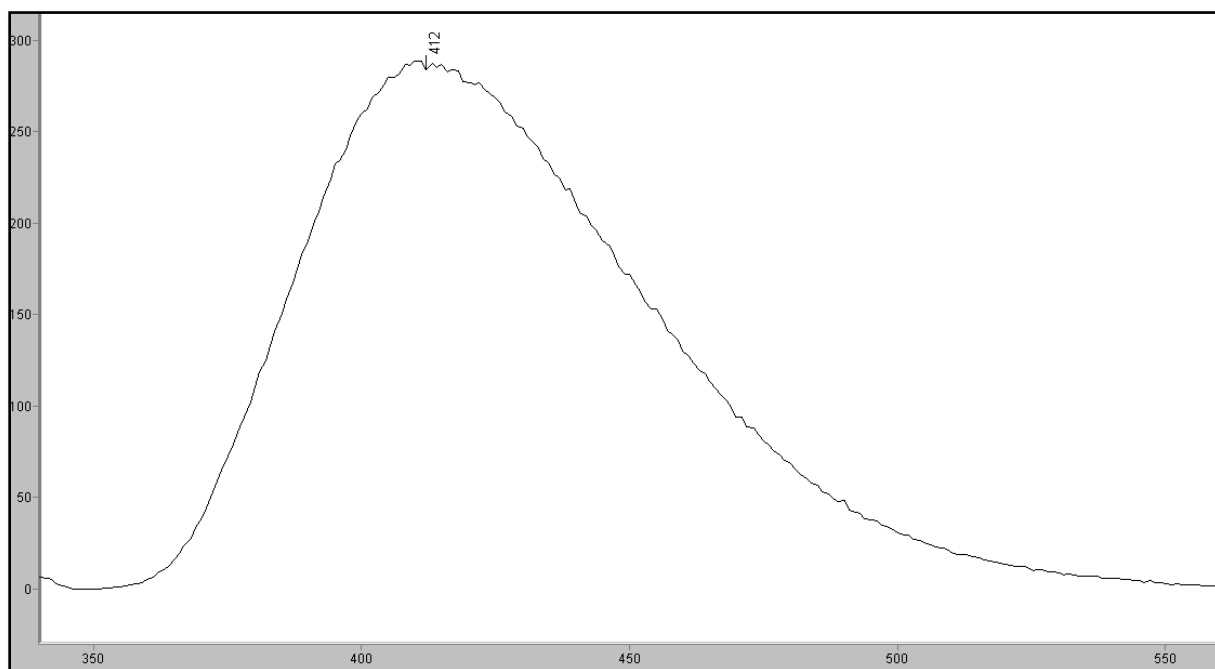


Spectre émission du composé A

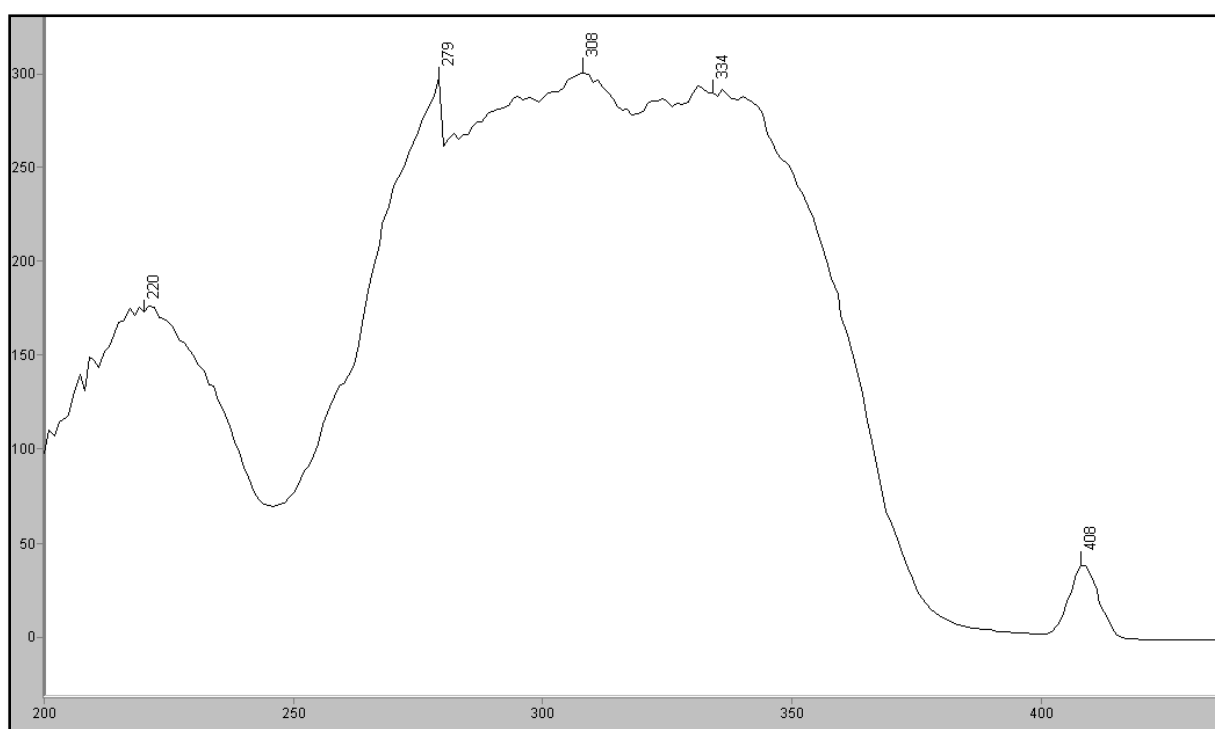


Spectre excitation du composé A

Annexe 8

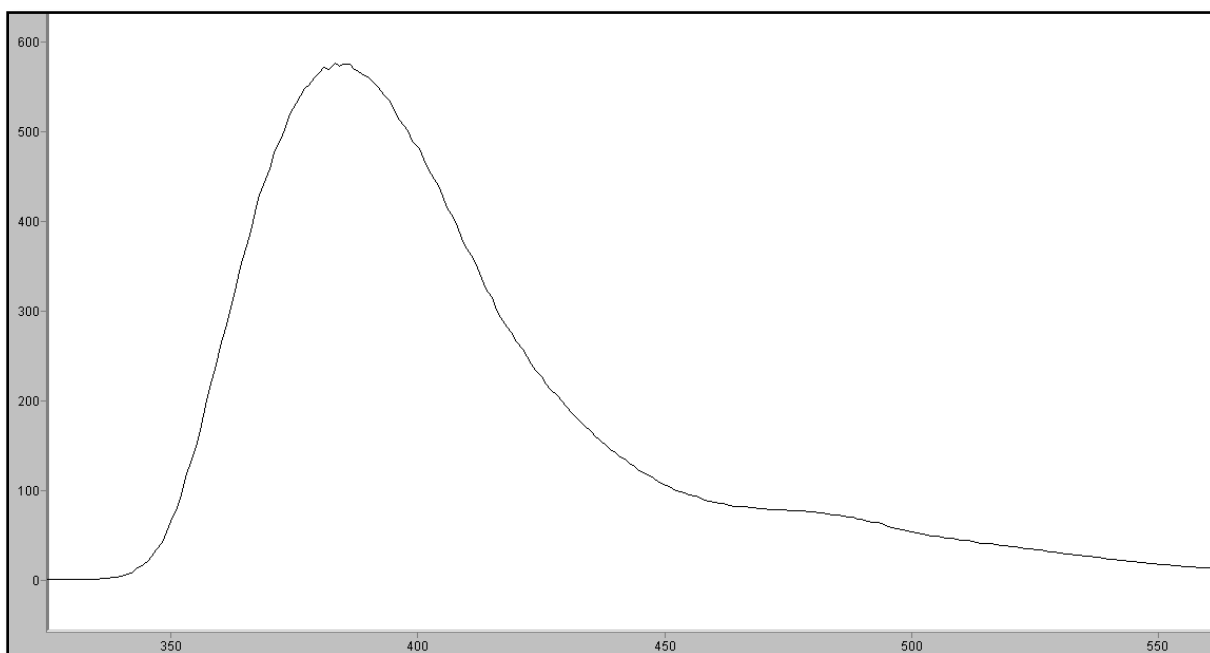


Spectre émission du composé B

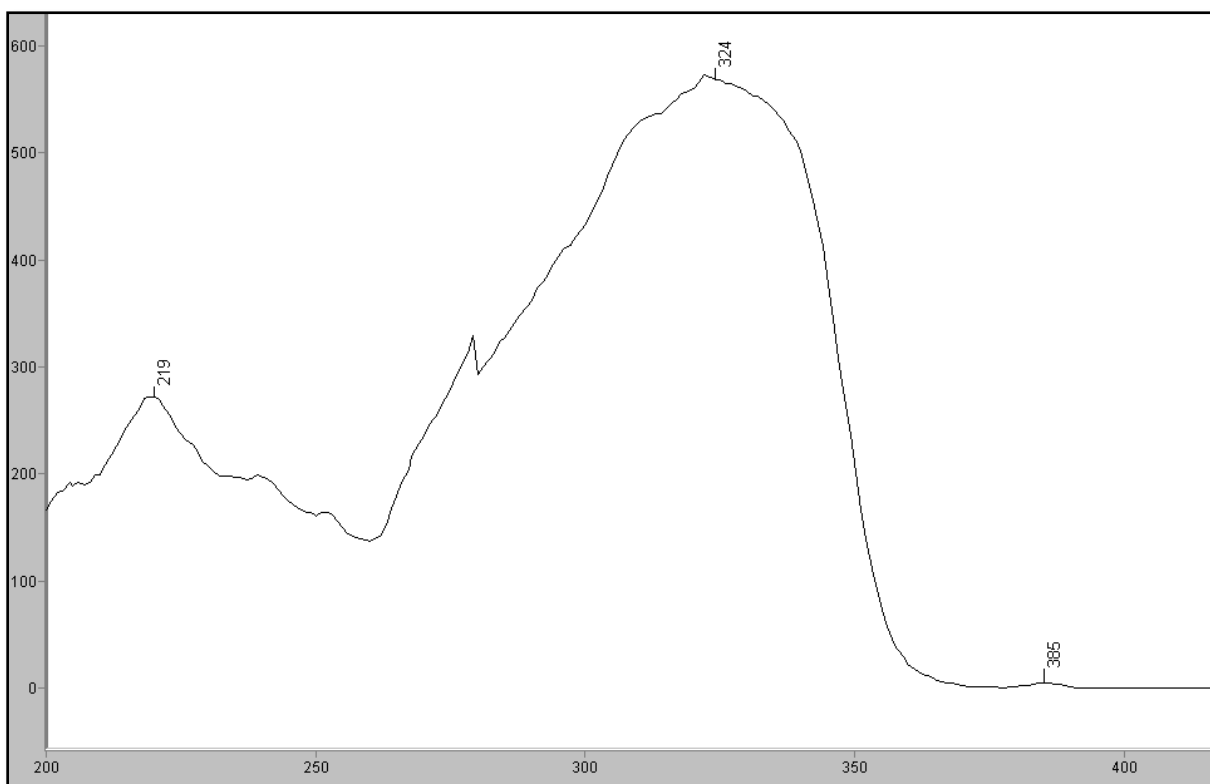


Spectre excitation du composé B

Annexe 8

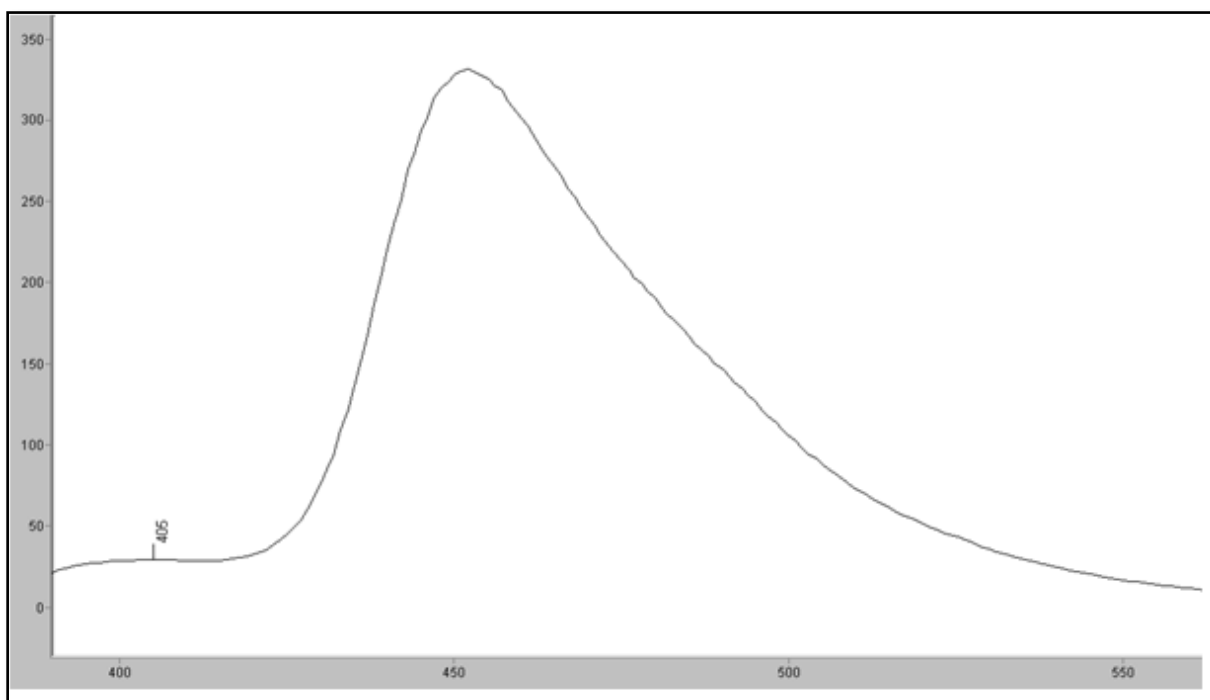


Spectre émission composé C

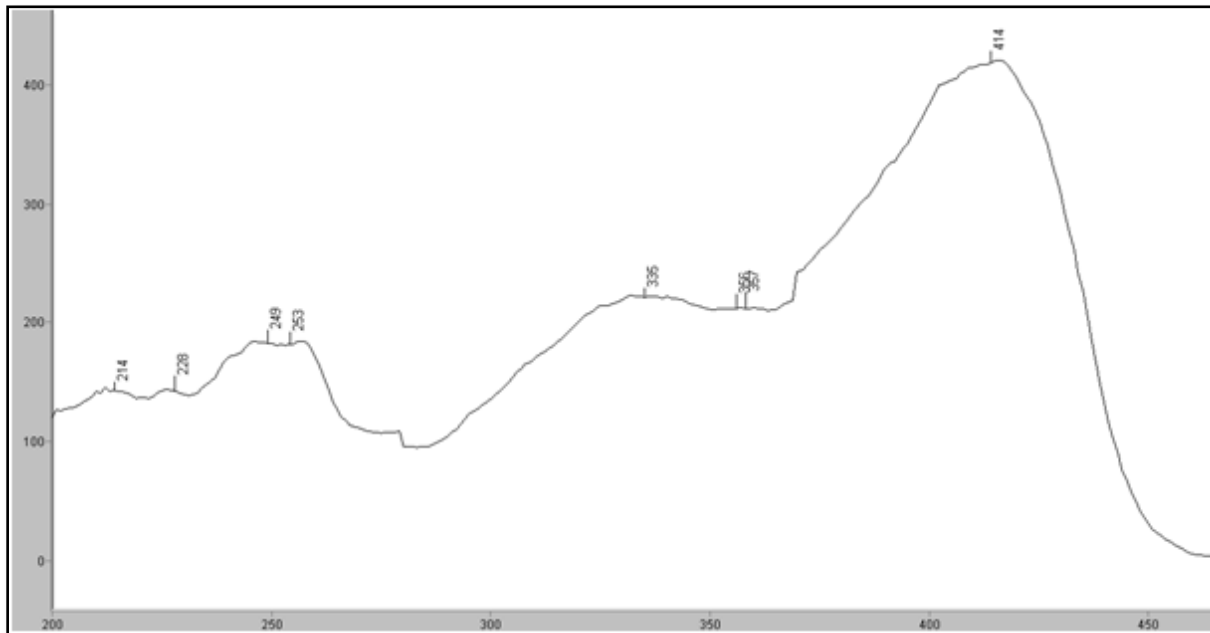


Spectre excitation du composé C

Annexe 8

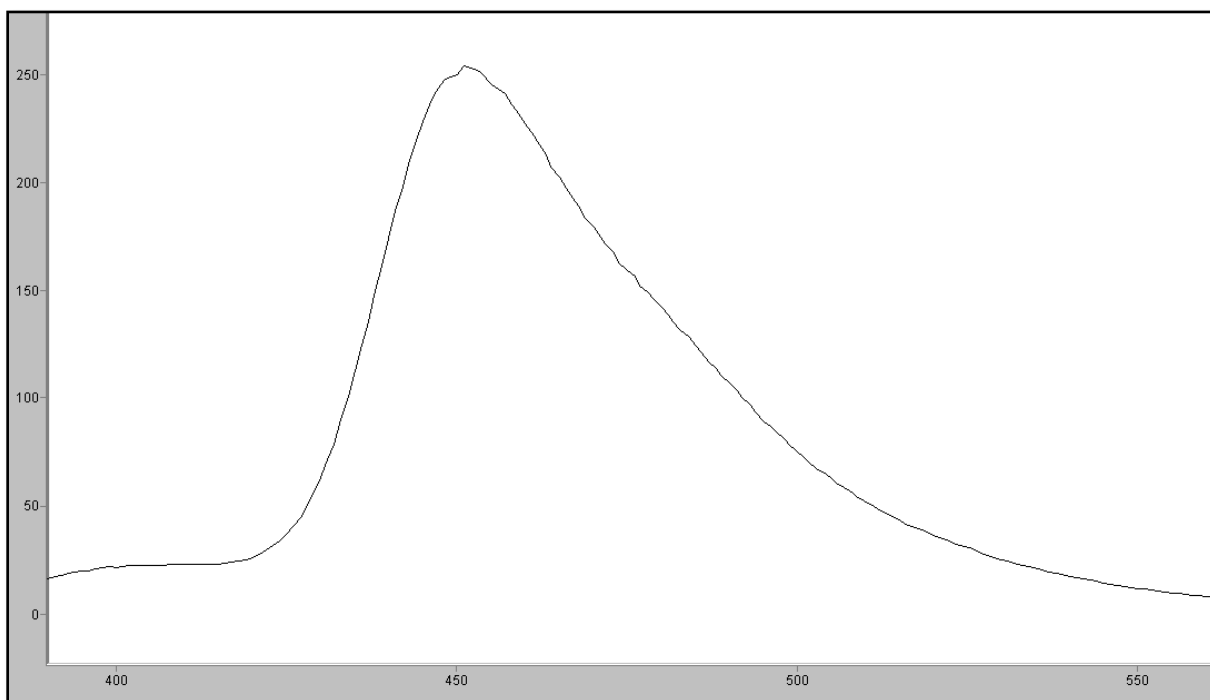


Spectre émission du composé D

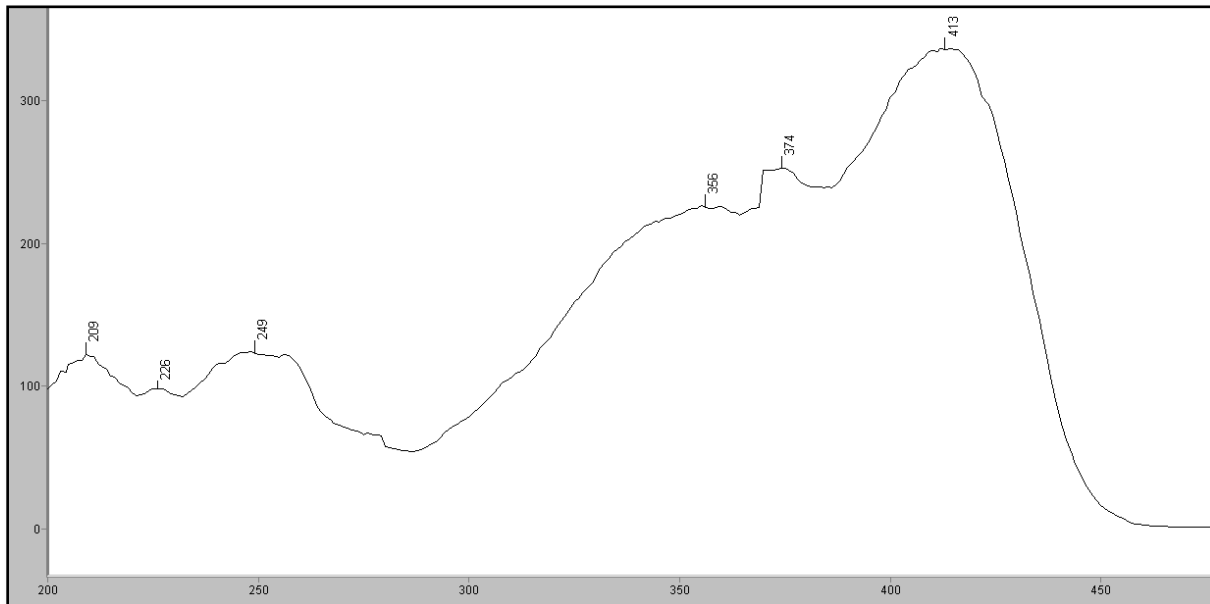


Spectre excitation du composé D

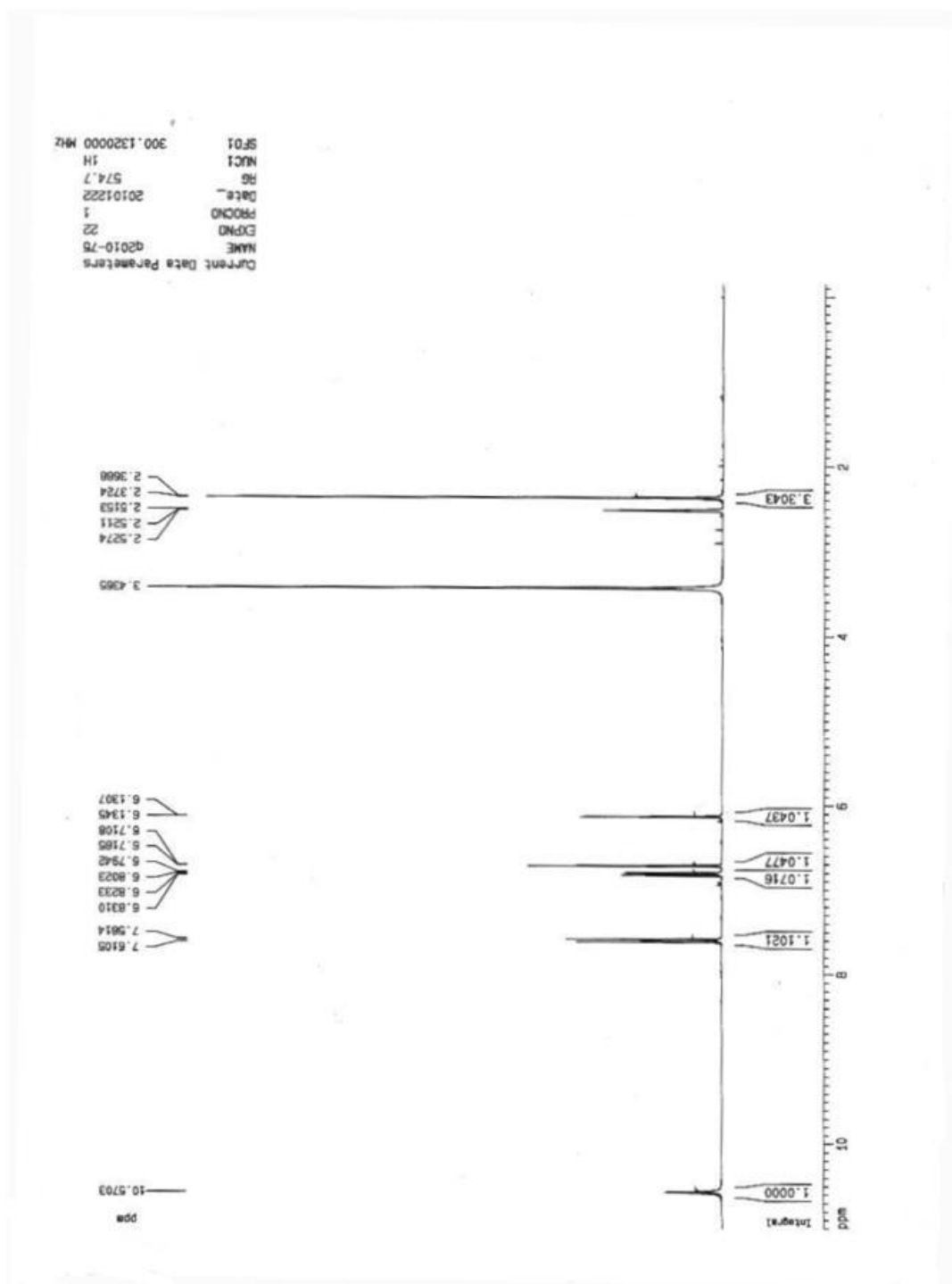
Annexe 8



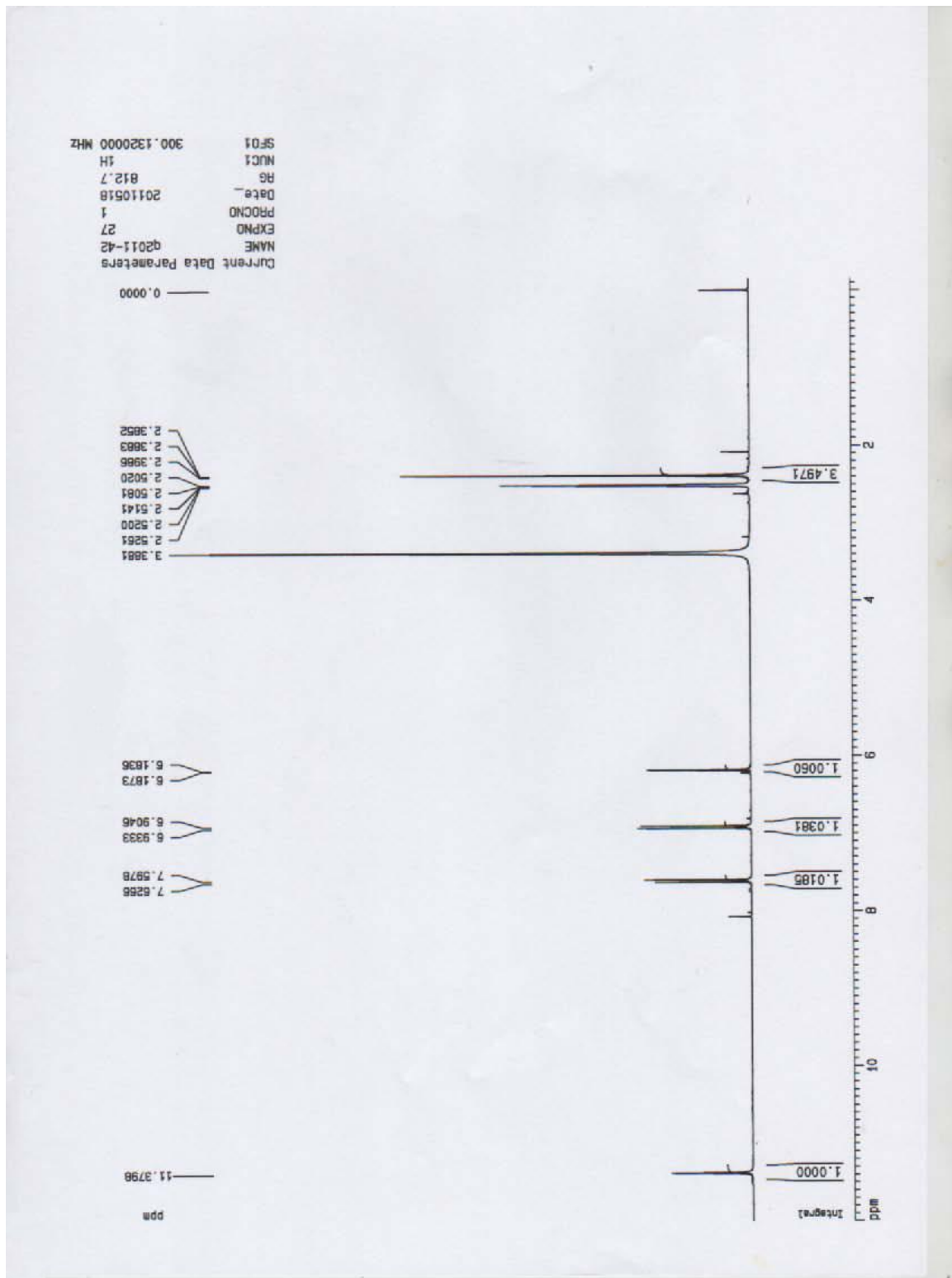
Spectre émission du composé E



Spectre excitation du composé E

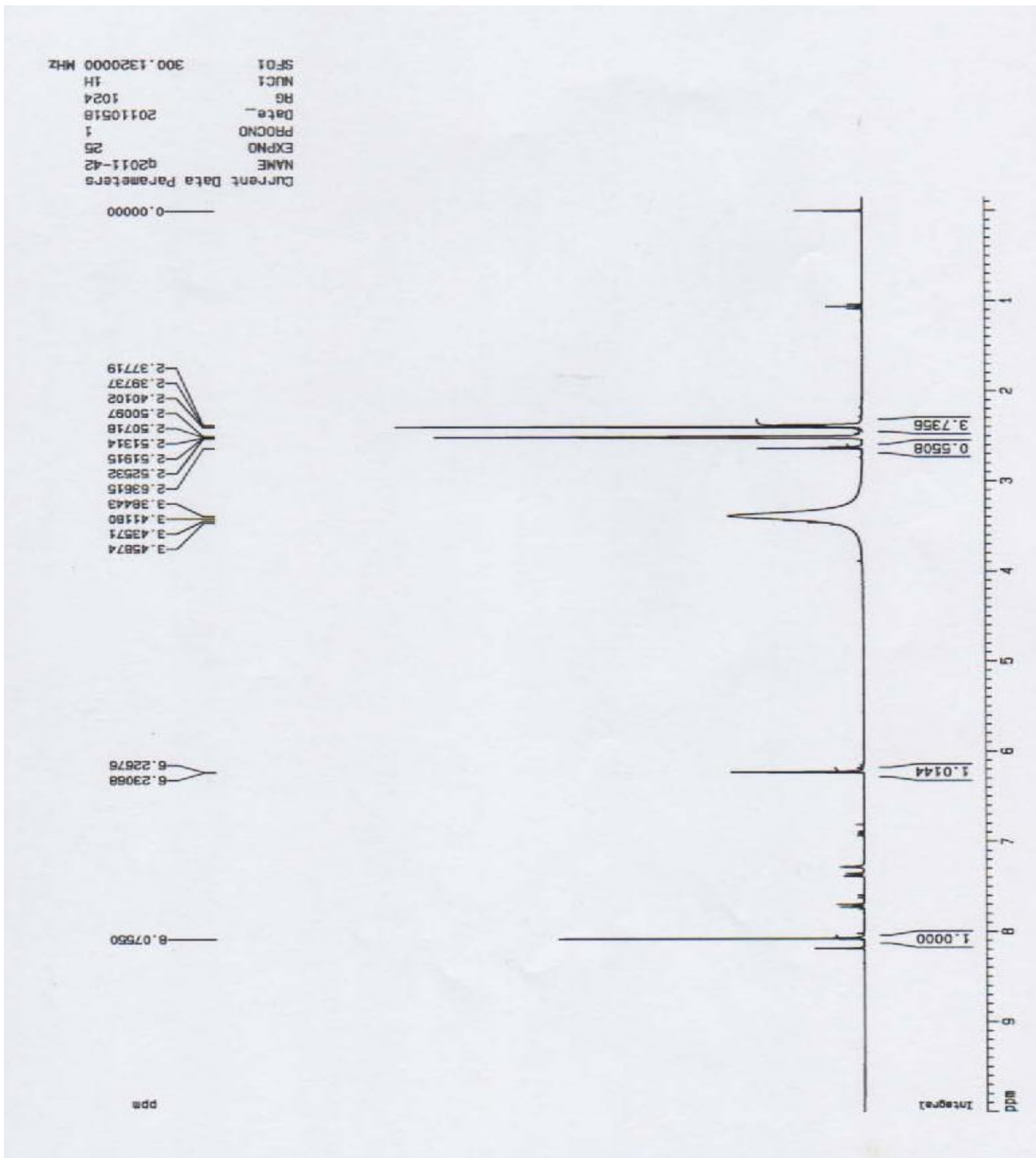


Spectre RMN du composé C



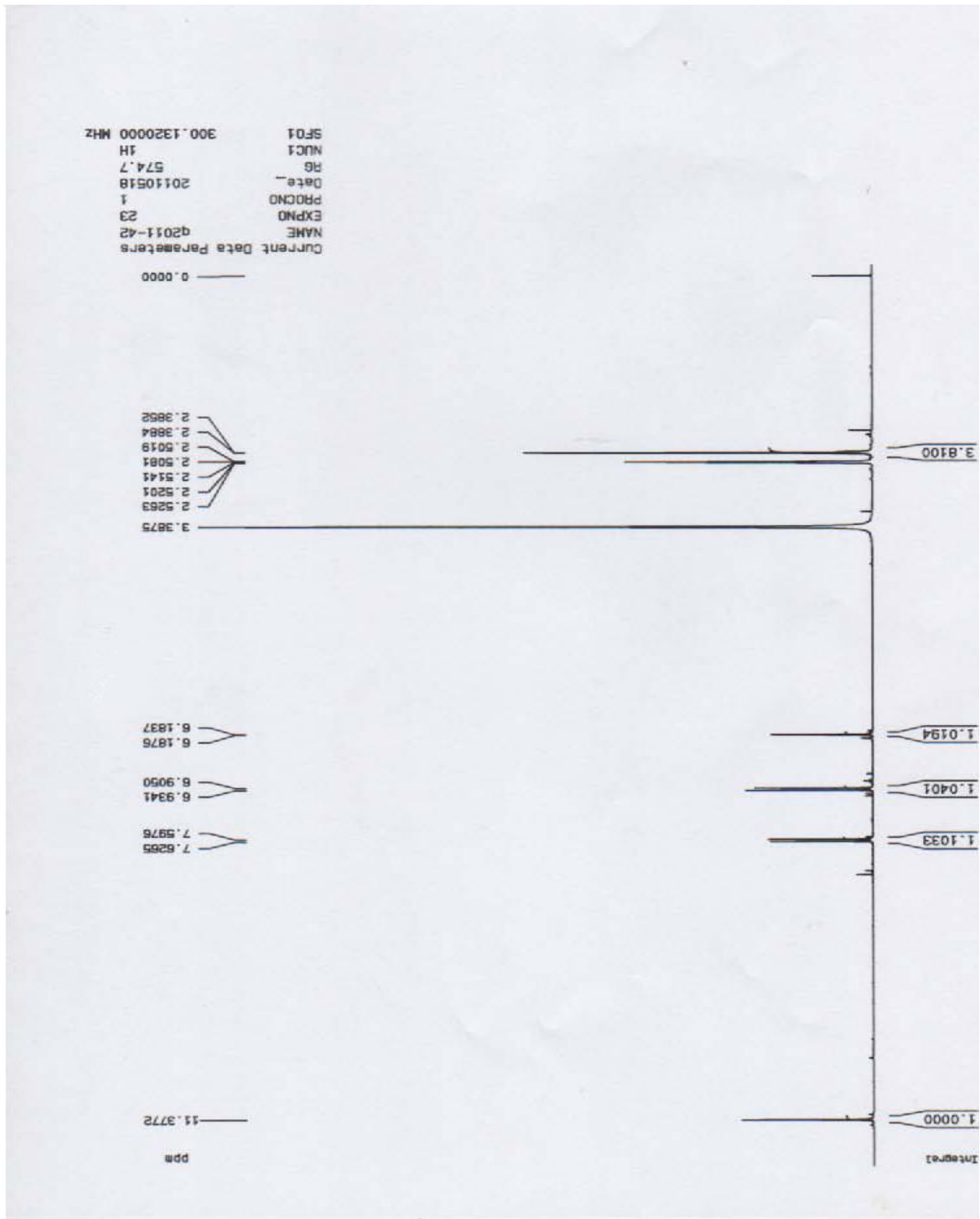
Spectre RMN du composé C iodé à la chloramine T

Annexe 9



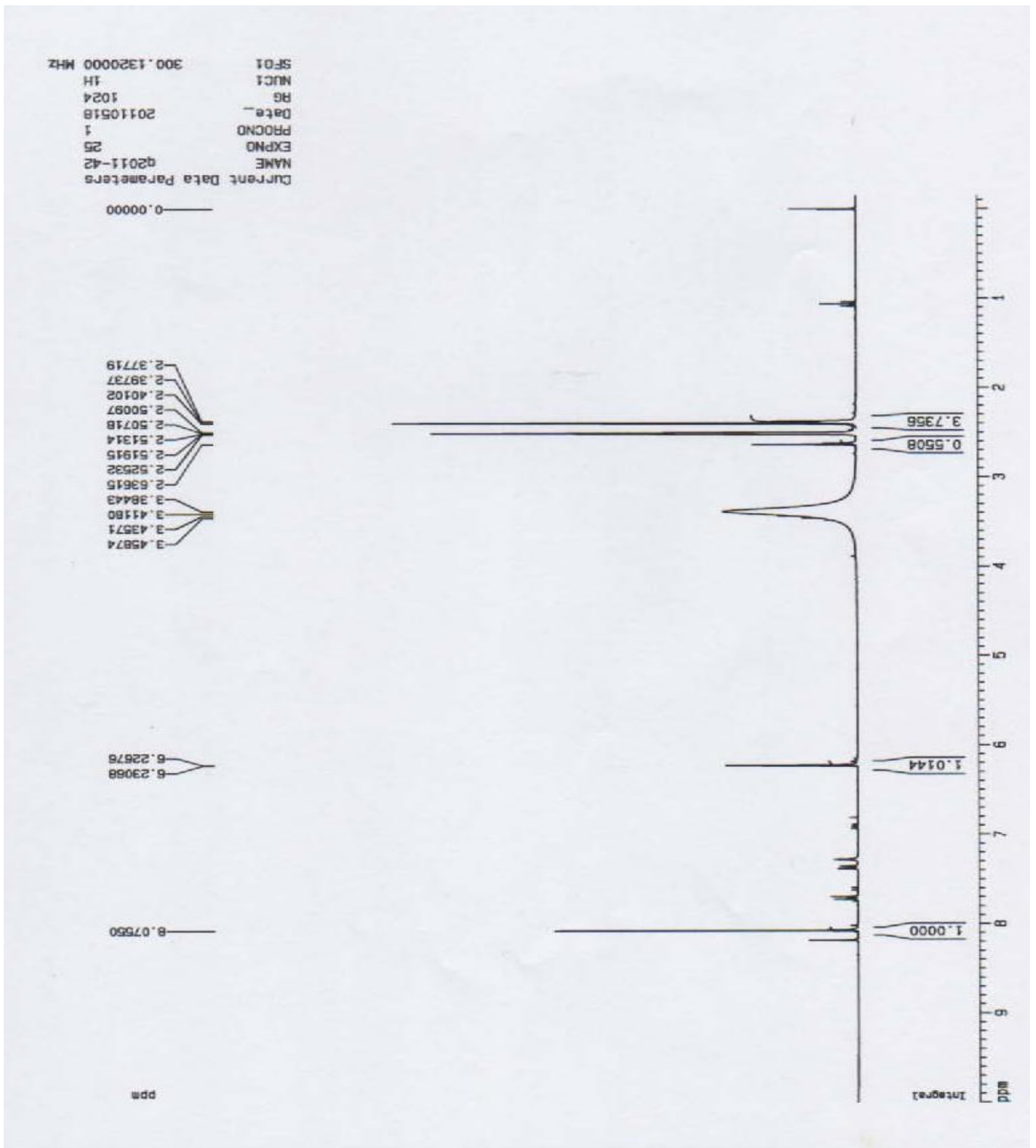
Spectre RMN du composé C iodé avec un excès de chloramine T

Annexe 9



Spectre RMN du composé C iodé à l'hypochlorite de sodium

Annexe 9



Spectre RMN du composé C iodé avec un excès de NaI



FINAL QUALITY CONTROL REPORT

I-125 Bulk

PF10039B.PAN

Validity on 26/11/2008

BATCH N° :	11L16
Lot fournisseur :	1450041

ANALYSIS N° 1219

REFERENCE DATE (1) 16/12/2011

TESTS	SPECIFICATIONS	RESULTS
APPEARANCE	Clear, colourless solution	• PASSED
RADIONUCLIDIC IDENTITY	Photopeak at 35.5 keV	• PASSED
RADIONUCLIDIC PURITY	I-126/I-125 : max 10^{-5} (1)	$\leq 4 \cdot 10^{-6}$
RADIOCHEMICAL PURITY	Iodide : min 95 %	99 %

QC Manager

Nom

Signature

Date

wolf c

16/12/2011

Rapport du contrôle de qualité de l'iode