

L'électron : une sonde fantastique

Résumé Le TEMPO (2,2,6,6-tétraméthyl-1-piperidinyloxy), et les nitroxydes en général, constituent une classe particulière de radicaux libres. Leur stabilité en ont fait des outils précieux et efficaces dans de nombreux domaines de la chimie, notamment comme agents d'oxydation en synthèse organique, comme aimants moléculaires ou bien encore comme sondes pour l'étude structurale et dynamique de systèmes complexes, organismes vivants inclus. La présence concomitante de spécificités chimiques, électrochimiques et magnétiques au sein d'une si petite molécule organique a conduit à une large variété d'applications en recherche mais aussi dans l'industrie, et les perspectives inspirantes et excitantes sont nombreuses. En outre, le signal RPE des nitroxydes encode une somme d'informations phénoménale qui est rendue plus accessible avec les récents développements méthodologiques et technologiques de la RPE.

Mots-clés Nitroxydes, spectroscopie RPE, radicaux libres, sondes moléculaires, spin.

Abstract **The electron: a fantastic probe**

TEMPO (2,2,6,6-tetramethyl-1-piperidinyloxy) nitroxides are a peculiar class of free radicals. Their stability made them amazing and powerful tools in different areas of chemistry, from oxidation reagents to molecular magnets and probes unveiling structural and dynamic features in molecular to biomolecular systems, including living organisms. The gathering of specific chemical, electrochemical and magnetic properties in a small organic molecule led to a wide range of applications, and exciting and still inspiring perspectives are coming. Moreover, the EPR signal of nitroxides contains a wealth of information that is more and more accessible with the development of high-field and pulsed EPR spectroscopy.

Keywords Nitroxides, EPR spectroscopy, free radicals, molecular probes, spin.

Une stabilité remarquable

Depuis leur découverte il y a un siècle, et cinquante ans après la description du très populaire TEMPO (2,2,6,6-tétraméthyl-1-piperidinyloxy), les radicaux nitroxyde (*figure 1*) se sont rendus utiles voire indispensables dans de nombreux domaines de la chimie, tant en recherche fondamentale que dans l'industrie. L'introduction de nouvelles voies synthétiques et les récents développements de la résonance paramagnétique électronique (RPE) ont contribué à leur constante évolution et à leur actuelle positionnement en chimie et à ses interfaces. De nos jours, les nitroxydes sont largement utilisés en synthèse organique comme réactifs d'oxydation [1-2], en spectroscopie comme marqueurs, sondes ou encore agents de polarisation [3], en science des matériaux comme médiateurs de polymérisation radicalaire contrôlée ou comme antioxydants [4], en (bio)chimie radicalaire, en chimie supramoléculaire et chimie combinatoire dynamique [5-6], dans divers domaines du magnétisme [7] et aussi dans le stockage de l'énergie comme composés d'électrodes [8].

Pourquoi certains membres de la famille des nitroxydes (TEMPO, PROXYL, TMIO, *figure 1*) sont-ils des radicaux stables et en quoi la présence d'un électron libre confère-t-elle ce large panel de propriétés ? En effet, ces radicaux libres ne se dégradent pas, même au bout de plusieurs années lorsqu'ils

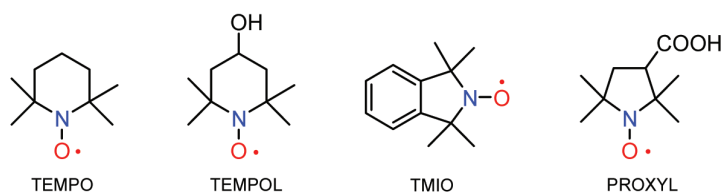


Figure 1 - Structures de nitroxydes usuels.

sont stockés sur une étagère sans précaution particulière. Cette stabilité est liée à la présence atypique d'une liaison π à trois électrons entre les atomes d'azote et d'oxygène (qui apportent respectivement deux et un électrons) combinée soit à l'absence d'atome d'hydrogène en position β , soit à des raisons structurales empêchant leur dismutation. Leur non-dimérisation, leur non-réactivité avec l'oxygène moléculaire (O_2), leur faible caractère d'arracheur d'atome d'hydrogène ainsi que leurs propriétés oxydante et réductrice limitées contribuent à cette stabilité remarquable (*figure 2*).

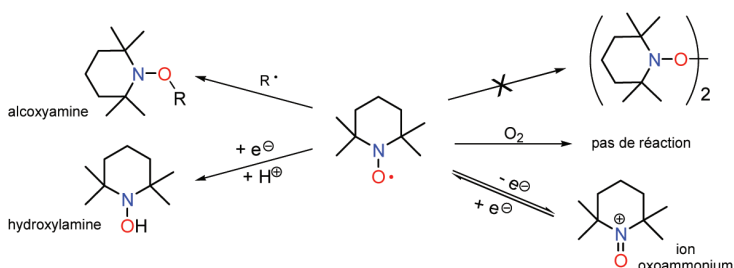


Figure 2 - Réactivité des nitroxydes.

Parmi leurs réactivités chimiques, les plus populaires sont l'oxydation réversible en sel d'oxoammonium et la réaction avec les radicaux centrés sur le carbone pour former des alcoxyamines thermolabiles. Une autre particularité des nitroxydes est leur caractère paramagnétique, avec un spin électronique associé à l'électron célibataire. Cette propriété de sonde radicalaire est rare, et telle que l'utilisation des nitroxydes se réinvente sans arrêt. L'introduction régulière de technologies nouvelles permet de toujours tirer profit de ces composés, rendant possible des expériences inaccessibles auparavant. Les exemples présentés dans cet article sont une

illustration du riche et varié panorama du couple nitroxyde/spectroscopie RPE.

La catalyse de spin, ou comment booster la RMN

La résonance magnétique nucléaire (RMN) est un des outils clés pour caractériser la matière à l'échelle atomique. Son utilisation englobe une diversité très large de systèmes allant de la petite molécule organique aux matériaux hybrides et aux organismes entiers. Même si cette technique occupe une place stratégique en science, elle n'en possède pas moins une limitation associée à sa faible sensibilité qui empêche de nombreuses applications et développements nouveaux. Au cours de la dernière décennie, la technique de polarisation dynamique nucléaire (PDN) a démontré être une approche efficace et prometteuse pour s'affranchir de cette limitation de sensibilité et cette technique connaît actuellement un développement phénoménal [9-10]. Le principe de la PDN repose sur le transfert de la plus large polarisation des spins électroniques aux spins nucléaires environnants sous irradiation micro-onde (figure 3) [11].

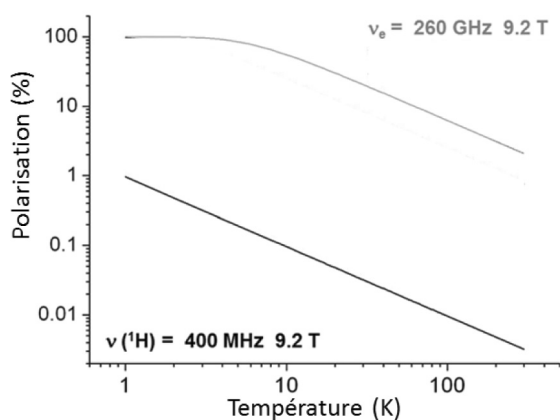


Figure 3 - Évolution de la polarisation des spins électronique et nucléaire en fonction de la température.

Une augmentation de l'intensité du signal par plus de deux ordres de grandeur ($\times 100$) est maintenant obtenue en routine, ce qui se traduit par des gains en temps colossaux ($\times 10\,000$), rendant possibles des expériences infaisables sans PDN (figure 4b). Du fait de sa grande polyvalence couvrant des domaines allant de la biologie structurale aux sciences moléculaires et des matériaux, et à l'imagerie médicale [12], la PDN fait maintenant partie des expériences utilisées dans de très

nombreuses études par RMN et IRM. Par exemple, la PDN s'est illustrée en permettant l'étude détaillée de sites actifs de matériaux fonctionnels avec une résolution atomique ou de formulations pharmaceutiques, mais aussi en révélant des détails structuraux dans des machineries biologiques complexes, systèmes restant des défis pour la RMN conventionnelle [13].

Dès le début des développements de la PDN à hauts champs ($> 4\text{ T}$), la conception des agents de polarisation paramagnétiques est devenue un enjeu crucial pour obtenir de grands facteurs d'augmentation de signal. Les spins électroniques « catalysent » la conversion des spins nucléaires de manière à conduire à une plus large polarisation de ces derniers, ce qui est synonyme de signaux RMN plus intenses. L'efficacité du transfert de polarisation n'est atteinte que si des conditions précises de correspondance de niveaux d'énergie sont satisfaites. Grâce aux outils de la synthèse organique et de la RPE, de grands progrès ont été accomplis dans la conception de biradicaux (figure 4a), ce qui a permis de dévoiler et d'optimiser des paramètres clés, tels que l'orientation relative des motifs TEMPO, le rôle et l'amplitude des interactions magnétiques dipolaires et d'échange, et de la relaxation électronique [14-15].

Le piégeage de spin, ou comment étudier des radicaux furtifs

Une grande majorité de radicaux libres sont transitoires et leur détection directe est souvent un exercice difficile du fait de leur très courte durée de vie et de leur grande réactivité. Bien que la spectroscopie RPE apparaisse idéale pour leur étude, la très faible concentration des radicaux libres ou leur relaxation trop rapide empêchent leur détection directe à température ambiante. Pour contourner cette limitation, la technique de piégeage de spin (ou spin trapping) a été imaginée et a démontré être un outil robuste et polyvalent (voir l'article de B. Tuccio *et coll.* dans ce numéro [16]). Cette technique permet la détection et la caractérisation de radicaux libres en solution à température ambiante, en convertissant les radicaux transitoires en adduits paramagnétiques persistants (plusieurs minutes à quelques heures) présentant des signatures RPE caractéristiques (figure 5). Son principe repose sur l'introduction d'un composé piège diamagnétique (composés nitron ou nitroso) qui réagit sélectivement avec les radicaux transitoires pour générer des adduits nitroxyde persistants dont la détection RPE est facilitée.

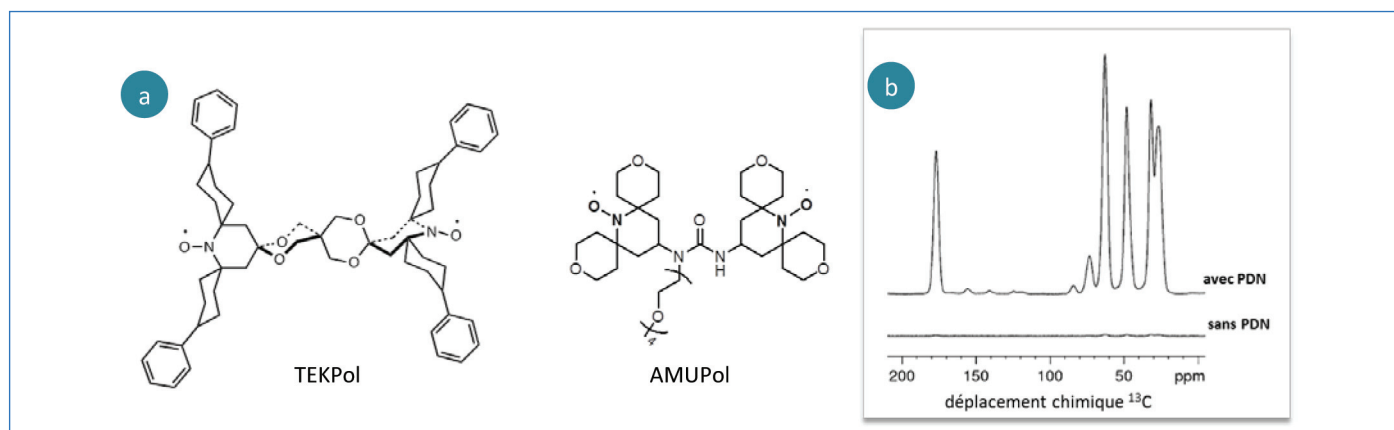


Figure 4 - a) Structures de biradicaux dinitroxyde comme agents de polarisation commerciaux. b) Illustration du gain de signal d'une solution de proline avec et sans PDN (avec et sans irradiation micro-onde) dans une expérience de RMN du solide à l'angle magique [14].

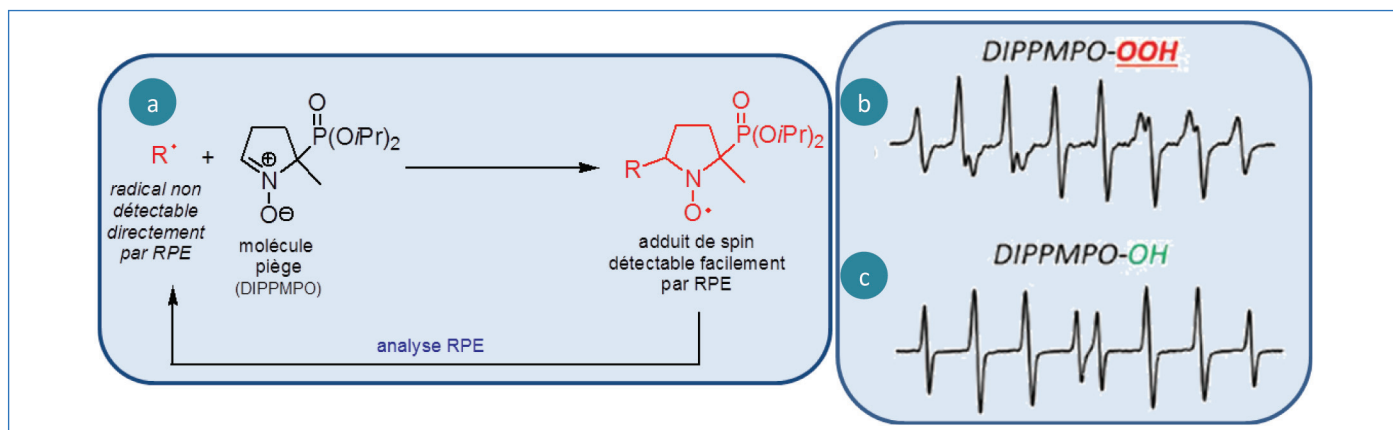


Figure 5 - a) Principe de la technique de spin trapping. b) Spectre RPE obtenu lors du piégeage du radical superoxyde par la DIPPMPPO. c) Spectre RPE obtenu lors du piégeage du radical hydroxyle par la DIPPMPPO [16].

Le développement du piégeage de spin a bénéficié de l'intérêt croissant de l'étude des espèces radicalaires impliquées dans le stress oxydant en biologie et en médecine, notamment le radical anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$. En effet, cette espèce radicalaire est impliquée dans la pathogenèse de nombreuses maladies (maladies de Parkinson et d'Alzheimer, diabète, certains cancers, athérosclérose) et dans plusieurs processus de communication et de signalisation cellulaires (figure 5b). Il a donc été évident que le succès de la technique de piégeage de spin reposait sur les performances des molécules pièges à réagir avec les radicaux issus du stress oxydant dans les systèmes biologiques. Au cours des trois dernières décennies, nous avons développé des pièges aux propriétés intrinsèques améliorées pour le piégeage du radical superoxyde mais aussi plus adaptés aux conditions biologiques, en ciblant la source de radical superoxyde dans les cellules (mitochondrie) et en développant des stratégies pour limiter la dégradation des adduits par les systèmes enzymatiques ou bioréducteurs [17]. La spectroscopie RPE associée à la synthèse organique a été au cœur de ces développements et a conduit à des avancées importantes, grâce notamment à l'utilisation de cyclodextrines greffées [18] comme agent protecteur des adduits ou du groupement triphénylphosphonium pour le ciblage des mitochondries [19].

L'électron libre comme sonde de la matière et de ses mouvements

L'une des caractéristiques remarquables de l'étude par spectroscopie RPE des nitroxydes réside dans sa capacité à apporter des informations précises sur l'environnement et la dynamique locale, sur des échelles de temps allant de la pico à la milliseconde. L'analyse des spectres RPE fournit ainsi une quantité incroyable d'informations qualitatives et quantitatives (viscosité, polarité, pH, isotropie de la mobilité, interactions faibles, dynamique locale, températures de transition, distances entre radicaux) pour des conditions expérimentales sans limitation [3]. Une des origines de cette capacité à sonder l'environnement réside dans la variation du couplage hyperfin à l'azote (A_N) induite par la stabilisation diverse des formes mésomères limites selon la polarité locale et/ou la présence de liaison hydrogène (figure 6). Ainsi, dans un solvant apolaire aprotique de type toluène, la forme limite ayant l'électron célibataire sur l'atome d'oxygène sera plus stabilisée et conduira à une valeur A_N de l'ordre de 15 gauss, alors que dans l'eau, A_N sera de l'ordre de 17,5 gauss.

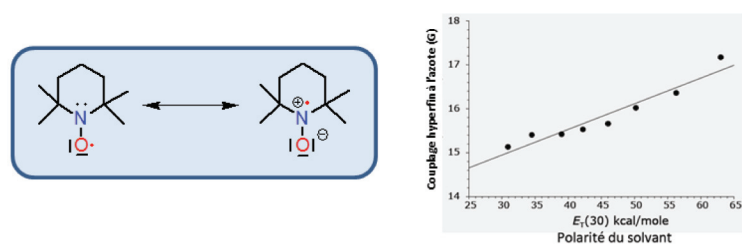


Figure 6 - Formes mésomères limites et variation du couplage hyperfin à l'azote (A_N) en fonction de la polarité du solvant (valeurs $E_T(30)$: 33 et 63 pour le toluène et l'eau respectivement).

La combinaison RPE/nitroxyde a été rapidement utilisée par la communauté de la chimie supramoléculaire pour étudier et caractériser des systèmes auto-assemblés, et notamment les processus d'inclusion dans des macrocycles tels que les cyclodextrines, les cucurbituriles et les nanocapsules [20].

Ainsi, à partir de l'analyse de spectres RPE (évolution du couplage hyperfin, intensité et forme relatives des raies), il est possible de déterminer les constantes d'association mais aussi d'avoir une information sur le positionnement de la molécule hôte ainsi que sur sa mobilité dans les trois directions de l'espace sur des échelles de temps difficilement accessibles avec d'autres techniques (figure 7) [21].

Dans l'exemple présenté dans la figure 7, utilisant un nitroxyde portant deux groupements ammonium aux extrémités (axe y de la molécule), il a pu être montré que son inclusion dans la cavité d'un cucurbiturile CB[7] générerait un pseudo-gyroscope moléculaire, avec une rotation sans friction autour de l'axe y. En solution, en règle générale, le mouvement de rotation et de translation d'une molécule moyenne souvent les interactions anisotropes. Dans l'exemple de la figure 7, l'anisotropie de réorientation du nitroxyde s'illustre par une différence de hauteur des raies RPE, avec la raie I_- plus haute que celle I_+ .

Le spin de l'électron a plus d'un tour dans son sac

La nature organique des radicaux nitroxyde permet d'utiliser la puissance de la synthèse organique pour façonner des sondes et des outils toujours plus performants et précis. Ainsi, les avancées récentes dans les spectroscopies RPE mais aussi RMN ont démontré que ces outils sont toujours des acteurs clés en évolution, et de nouvelles avancées passionnantes dans le domaine du magnétisme, de l'imagerie médicale, du stockage de l'information et de l'énergie, par exemple, sont à attendre dans un proche avenir.

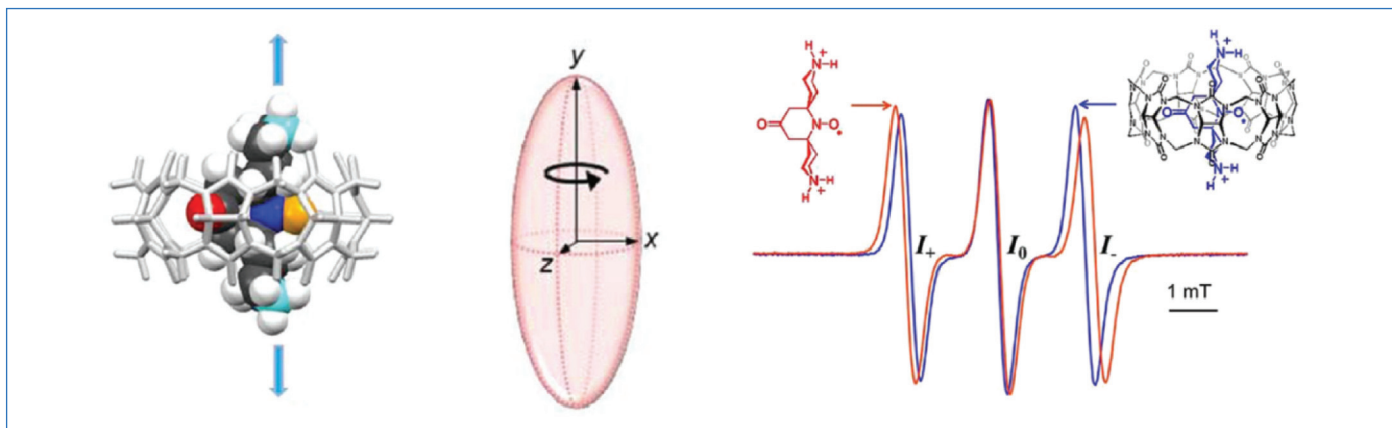


Figure 7 - Complexe d'inclusion d'un nitroxyde dans la cavité d'un cucurbiturile CB[7] et spectre RPE associé traduisant une rotation accélérée autour de l'axe propre y du nitroxyde.

- [1] Mercadante M.A. *et al.*, Synthesis of 4-acetamido-2,2,6,6-tetramethylpiperidine-1-oxoammonium tetrafluoroborate and 4-acetamido-(2,2,6,6-tetramethyl-piperidin-1-yl)oxyl and their use in oxidative reactions, *Nature Protocols*, **2013**, 8, p. 666.
- [2] Ciriminna R., Pagliaro M., Industrial oxidations with organocatalyst TEMPO and its derivatives, *Org. Proc. Res. & Dev.*, **2010**, 14, p. 245.
- [3] Karoui H., Le Moigne F., Ouari O., Tordo P., *Stable Radicals: Fundamentals and Applied Aspects of Odd-Electron Compounds*, R.G. Hicks (ed.), Wiley & Sons, **2010**, p. 173.
- [4] Maria S., Gigmès D., Les copolymères à blocs : exemples d'applications dans les domaines de l'énergie et de la santé, *L'Act. Chim.*, **2015**, 393-394, p. 89.
- [5] Franchi P., Lucarini M., Pedulli G.F., Use of nitroxide radicals to investigate supramolecular entities, *Current Org. Chem.*, **2004**, 8, p. 1831.
- [6] Herder M., Lehn J.-M., The photodynamic covalent bond: sensitized alkoxyamines as a tool to shift reaction networks out-of-equilibrium using light energy, *J. Am. Chem. Soc.*, **2018**, 140, p. 7647.
- [7] Meng X., Shi W., Cheng P., Magnetism in one-dimensional metal-nitronyl nitroxide radical system, *Coord. Chem. Rev.*, **2019**, 378, p. 134.
- [8] Muench S., Wild A., Friebe C., Häupler B., Janoschka T., Schubert U.S., Polymer-based organic batteries, *Chem. Rev.*, **2016**, 116, p. 9438.
- [9] Gajan D., Lapadula G., Schwarzwälder M., Copéret C., La RMN à l'état solide : un outil clef pour la compréhension moléculaire des catalyseurs hétérogènes bien définis, *L'Act. Chim.*, **2012**, 364-365, p. 82.
- [10] Zagdoun A., Emsley L., La RMN à haut champ : soixante ans à révolutionner la science, *L'Act. Chim.*, **2012**, 364-365, p. 20 ; De Paëpe G., Gambarelli S., Polarisation dynamique nucléaire à haut champ magnétique et résonance paramagnétique électronique, *L'Act. Chim.*, **2012**, 364-365, p. 111.
- [11] Ni Q.Z. *et al.*, High frequency dynamic nuclear polarization, *Acc. Chem. Res.*, **2013**, 46, p. 1933.
- [12] Plainchont B., Berruyer P., Dumez J.-N., Jannin S., Giraudeau P., Dynamic nuclear polarization opens new perspectives for NMR spectroscopy in analytical chemistry, *Anal. Chem.*, **2018**, 90, p. 3639 ; Casano G., Hakim H., Ouari O., Polarizing agents: evolution and outlook in free radical development for DNP, *eMagRes*, J. Wiley & Sons, **2018**, 7, p. 195.
- [13] Rossini A.J., Zagdoun A., Lelli M., Lesage A., Copéret C., Emsley L., Dynamic nuclear polarization surface enhanced NMR spectroscopy, *Acc. Chem. Res.*, **2013**, 46, p. 1942.
- [14] Sauvé C., Rosay M., Casano G., Aussenac F., Weber R.T., Ouari O., Tordo P., Highly efficient, water-soluble polarizing agents for dynamic nuclear polarization at high frequency, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2013**, 52, p. 10858.
- [15] Wisser D. *et al.*, BDPA-nitroxide biradicals tailored for efficient dynamic nuclear polarization enhanced solid-state NMR at magnetic fields up to 21.1 T, *J. Am. Chem. Soc.*, **2018**, 140, p. 13340.
- [16] André-Barrès C., Lalevée J., Anselmi E., Dagousset G., Magnier E., Gigmès D., Tuccio B., Spin trapping : la chasse aux intermédiaires radicalaires, *L'Act. Chim.*, **2019**, 443, p. 25.
- [17] Abbas K., Hardy M., Poulhès F., Karoui H., Tordo P., Ouari O., Peyrot F., Detection of superoxide production in stimulated and unstimulated living cells using new cyclic nitronyl spin traps, *Free Rad. Biol. Med.*, **2014**, 71, p. 281.
- [18] Hardy M. *et al.*, Mitochondria-targeted spin traps: synthesis, superoxide spin trapping, and mitochondrial uptake, *Chem. Res. Tox.*, **2014**, 27, p. 1155.
- [19] Hardy M., Chalier F., Ouari O., Finet J.P., Rockenbauer A., Kalyanaraman B., Tordo P., Mito-DEPMPO synthesized from a novel NH₂-reactive DEPMPO spin trap: a new and improved trap for the detection of superoxide, *Chem. Commun.*, **2007**, 10, p. 1083.
- [20] Ouari O., Bardelang D., Nitroxide radicals with cucurbit[n]urils and other cavitands, *Isr. J. Chem.*, **2018**, 58, p. 343.
- [21] Bardelang D. *et al.*, High binding yet accelerated guest rotation within a cucurbit[7]uril complex: toward paramagnetic gyroscopes and rolling nanomachines, *Nanoscale*, **2015**, 7, p. 12143.

David BARDELANG, chargé de recherche au CNRS, **Gilles CASANO**, ingénieur de recherche au CNRS, **Micael HARDY**, **Hakim KAROUÏ** et **Olivier OUARI***, maîtres de conférences, Équipe « Structure et Réactivité des Espèces Paramagnétiques » (SREP), Institut de Chimie Radicalaire (ICR), UMR 7273, CNRS/Aix-Marseille Université, Marseille.

* olivier.ouari@univ-amu.fr

Retrouvez-nous en ligne !
lactualitechimique.org
 Archives, actus, photothèque...